

Aus der Klinik für Klauentierkrankheiten und Fortpflanzungskunde
Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Akrosinaktivitäten von Nebenhodenspermien verschiedener Haustierarten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Thomas Hitzbleck
Tierarzt aus Wilhelmshaven

Berlin 1984
Journal-Nr. II70



Aus der Klinik für
Klauentierkrankheiten und Fortpflanzungskunde
Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Akrosinaktivitäten von Nebenhoden-
spermien verschiedener Haustierarten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Thomas Hitzbleck
Tierarzt aus Wilhelmshaven

Berlin 1984

Journal-Nr. 1170

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Fachbereichssprecher: Prof. Dr. F. Hörchner

Referent: Prof. Dr. D. Rohloff

Korreferent: Prof. Dr. A. Kelami

Tag der Promotion:

24. Februar 1984

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1. EINLEITUNG

1

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Morphologie und Funktion von Hoden und Nebenhoden

2.1.1. Der Hoden	2
2.1.2. Spermiogenese	2
2.1.3. Spermiohistogenese	3
2.1.4. Der Nebenhoden	4 - 6
2.1.5. Nebenhoden und Spermientransport	6 - 7

2.2. Das Akrosom

7

2.2.1. Kapazitation und Akrosomenreaktion	8 - 9
2.2.2. Die akrosomalen Enzyme	9 - 10

2.3. Das akrosomale Enzym Akrosin

10 - 11

2.3.1. Biochemische Charakterisierung des Akrosins	11 - 12
2.3.2. Funktion des Akrosins	12 - 13
2.3.3. Akrosininhibitoren	14
2.3.4. Nachweismethoden	15 - 16

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Tiermaterial	17
3.1.2. Spermengewinnung	17
3.1.3. Gewinnung des Akrosomen-Extraktes	17 - 18
3.1.4. Quantitative photometrische Akrosin-Bestimmung	18 - 19

3.2. Versuchsergebnisse	
3.2.1. Ergebnisse: Bullenspermien	20 - 29
3.2.2. Ergebnisse: Eberspermien	30 - 39
3.2.3. Ergebnisse: Schafbockspermien	40 - 48
4. DISKUSSION DER ERGEBNISSE	49 - 52
5. ZUSAMMENFASSUNG	53
6. SUMMARY	54
7. LITERATURVERZEICHNIS	55 - 71

1. EINLEITUNG

In welchem Bereich des Nebenhodens die Spermien bei ihrer Wanderung durch die ableitenden Samenwege ihre Befruchtungsfähigkeit erlangen, wird von den verschiedensten Autoren seit Jahrzehnten sehr kontrovers diskutiert.

Eine Beantwortung dieser Frage ist aber dann von großem Interesse, wenn der operative Androloge mit chirurgischen Maßnahmen erworbene Verschlüsse im Bereich der Samenstränge bzw. im Nebenhodenbereich durch Epididymovasostomien beheben oder durch Implantationen von alloplastischen Spermatozelen Spermien zu Inseminationszwecken gewinnen will (KELÂMI u. Mitarb., 1977). Da hierzu bisher keine eindeutige Klärung erfolgt ist, sollte dieser Frage im Rahmen der vorliegenden Arbeit nochmals nachgegangen werden.

Um neben morphologischen Untersuchungsbefunden weitere Informationen über Funktionszustände der Nebenhodenspermien zu erhalten, sollte in diesem Zusammenhang eine vergleichende quantitative Bestimmung des Penetrationsenzym Akrosin an Spermien aus verschiedenen Nebenhodenabschnitten durchgeführt werden. Um hierbei tierartspezifische Eigenarten ausschließen zu können, sollten für diese Untersuchungen sowohl Eber als auch Bullen und Schafböcke verwendet werden.



2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Morphologie und Funktion von Hoden und Nebenhoden

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollen Morphologie und Funktion der männlichen Gonaden nur insoweit detailliert dargestellt werden, wie dies für das Verständnis der durchgeführten Untersuchungen notwendig ist.

2.1.1. Der Hoden

Der Hoden, ein paariges Organ, im Hodensack gelagert, ist als männliche Keimdrüse für die Produktion der Samenzellen verantwortlich. Das samenproduzierende Gewebe ist von einer Kapsel, der Tunica albuginea testis, fest umschlossen. Von dieser Kapsel, die die Arteria und Vena spermatica interna enthält, ziehen unterschiedlich starke Bindegewebssepten, Septula testis, in das Innere des Organs, wo sie dann in Längsrichtung verlaufen und das Mediastinum testis bilden. Durch diese Septen entsteht die typische läppchenartige Aufteilung des Hodenparenchyms, das aus den gewundenen Samenkanälchen, den Tubuli seminiferi contorti, besteht, die über die Tubuli recti in das Rete testis des Mediastinums münden.

Von hier erfolgt der Abtransport der Spermien in den Nebenhodenkanal (NICKEL, SCHUMMER, SEIFERLE, 1967).

2.1.2. Spermiogenese

Die Tubuli seminiferi contorti besitzen eine dünne, aus Gitterfasern bestehende Basalmembran, auf der die für die Spermienbildung verantwortlichen Ursamenzellen, die Spermiogonien, lokalisiert sind.

Die Spermatogenese ist nach MANN und LUTWAK-MANN (1981) ein Prozess, der eine schrittweise Proliferation und Transformation der männlichen Keimzellen darstellt und in der Produktion von Spermatozoen seinen Höhepunkt hat. Beim Ablauf der Spermiogenese wird eine Vermehrungsperiode, eine Wachstumsperiode und eine Reifeteilungsperiode unterschieden (BARGMANN, 1964).

In der Vermehrungsperiode finden zunächst mitotische Teilungen der Spermatogonien statt, worauf sich deren Entwicklung zu Spermatozyten (Spermiozyten 1. Ordnung) anschließt. Die Spermatozyten zeichnet ein starkes Wachstum aus, sie übertreffen im Verlauf der Wachstumsperiode die Spermatogonien bald deutlich an Größe. Der vorher polygonale Zelleib wird dabei fast kugelig und enthält einen auffallend großen Kern mit deutlicher Chromatinstruktur. Die Spermatozyten verweilen längere Zeit in diesem Zustand und liegen in den Samenkanälchen sehr zahlreich in mehreren Schichten übereinander. Es ist anzunehmen, daß zu dieser Zeit die Chromosomen-Konjugation und der Faktorenaustausch stattfindet (BARGMANN, 1964). An die Wachstumsperiode schließt sich die Reifeteilungsperiode an. In der ersten Reifeteilung entstehen aus einem Spermatozyten 1. Ordnung zwei Prä-spermatiden (Spermiozyten 2. Ordnung), aus denen dann in der 2. Reifeteilung je zwei Spermatiden hervorgehen. Somit entstehen aus jeder Spermatozyte 4 Spermatiden und damit auch 4 Spermien. Die synchrone Entwicklung der Zellen vom Stadium der Spermatogonien bis zu dem der Spermatiden wird anscheinend dadurch gewährleistet, daß sie bis zu dieser Entwicklungsphase durch Zytoplasmabrücken untereinander verbunden sind. Erst mit dem Abschluß ihrer Differenzierung zu Spermien erlangen die Zellen ihre Individualität durch Einschmelzung dieser Verbindung (BARGMANN, 1964).

2.1.3. Spermiohistogenese

Die Umwandlung der Spermatiden in Spermien, die Spermiohistogenese, ist die eigentliche Spermienreifung und erfolgt in innigem Kontakt zu den Stütz- oder Sertolizellen des Tubulusapparates. Hier findet zunächst eine Anlagerung der Spermatiden in Vierergruppen an die apikalen Fortsätze der Stützzellen statt, worauf während der Differenzierung eine Umschließung vom Zytoplasma dieser Elemente eintritt. Die Zuführung von Nahrungsstoffen erfolgt über die Sertolizellen (BUCHERER, 1962). Die Zeitspanne, die für die Umwandlung von der Spermatogonie zum fertigen Spermium benötigt wird, ist für jede Spezies konstant. Beim Menschen sind es mehr als 2 Monate, beim Bullen und Schaf-

bock etwas weniger als 2 Monate und bei der Maus 34 Tage (MANN u. LUTWAK-MANN, 1981).

Nicht nur der zeitliche Ablauf der Spermatogenese sondern auch jeder einzelne Schritt ihres Verlaufes findet in festgelegten Zeiträumen statt. Gesteuert wird dieses hormonabhängige System über die Sertolizellen (MANN u. LUTWAK-MANN, 1981). Während des Umwandlungsprozesses der Spermatide zum Spermium rückt der leicht exzentrisch liegende runde Zellkern gegen einen Zellpol, nimmt eine längliche Form an und erreicht unter weiterer Formveränderung eine so exzentrische Lage, daß er den Kopf des Spermiums bildet. Am gegenüberliegenden Zellrand bildet das distale Zentriol die Anlage des Achsenfadens und später durch Teilung die Querscheibe und den Schlußring. Aus dem proximalen Zentriol entsteht die Kopfscheibe (CLARA, 1966).

2.1.4. Der Nebenhoden

Der dem Hoden aufliegende Nebenhoden wird seinem Aussehen nach in drei Abschnitte gegliedert. Man unterscheidet den Nebenhodenkopf, dem der dünne, längliche Nebenhodenkörper folgt, sowie den distalen Teil, den Nebenhodenschwanz. Die Überleitung vom Hoden in den Nebenhoden erfolgt durch wenige, in Schlingen liegende Hodenkanälchen, den Ductuli efferentes, die sich zum Nebenhodenkanal vereinigen oder die bei einigen Tierarten einzeln in den Nebenhodenkanal münden. Die Länge des Nebenhodenkanals ist tierartlich unterschiedlich und erreicht bei Wiederkäuern 40 - 50 Meter, beim Pferd 70 - 80 Meter (NICKEL, SCHUMMER, SEIFERLE, 1967) und beim Eber ca. 60 Meter (MANN u. LUTWAK-MANN, 1981).

In seinen einzelnen Abschnitten zeigt der Nebenhodenkanal morphologische Unterschiede. Das auskleidende Epithel nimmt vom Nebenhodenkopf zum Nebenhodenschwanz in der Höhe ab, die zirkulär angeordneten glatten Muskelfasern lassen dagegen eine Stärkenzunahme erkennen. Das relativ dünne Lumen des Nebenhodenkanals erweitert sich erst im Bereich des Nebenhodenschwanzes (GLOVER u. NICANDER, 1971). Diese morphologischen Unterschiede in den einzelnen Nebenhodenabschnitten werden von

MARTAN (1969) mit einer sich ändernden Sekretions- und Resorptionstätigkeit erklärt.

Dem Nebenhoden wird eine bedeutende Rolle bei der Spermienreifung zugeschrieben, die eine wesentliche Voraussetzung für die Beweglichkeit und Befruchtungsfähigkeit der Spermien ist. Die Spermienreifung wird nach AUSTIN (1967) sowie BEDFORD (1970) nicht mit der Spermiogenese abgeschlossen, sondern setzt sich sogar bei Spermien, die sich im weiblichen Genitaltrakt befinden, bis zum Abschluß der Kapazitation fort. Die Produktion des Nebenhodenplasmas als funktionelles, die Nebenhodenspermien umgebendes Medium, gehört ebenso zu den Aufgaben des Nebenhodens, wie die Funktion als Spermienreservoir, in dem die Spermien bis zur Ejakulation gelagert werden. Während dieser Lagerung erfolgt eine Beseitigung der überalterten Spermien (MANN u. LUTWAK-MANN, 1981). Sekretion und Resorption ist eine wesentliche Aufgabe des Epithels des Nebenhodenkanals, das in seiner Funktion androgenabhängig ist (BROOKS, 1977). Die Androgene erreichen ihre Wirkungsstätte über das Blut, die Lymphe, und gebunden an ein androgen-bindendes Protein, mit den Spermien aus dem Hoden (HANSSON u. Mitarb., 1974). Bei Abwesenheit oder Verminderung der Androgene erfolgt eine Verringerung des Ductusdurchmessers, eine Verminderung der Spermienzahl im Nebenhodenschwanz und eine deutliche Änderung der Zusammensetzung des Nebenhodenplasmas.

Die Arbeit der endothelialen Auskleidung des Nebenhodenkanals zeigt sich in einer deutlichen Konzentrierung der Nebenhodenspermien bei der Passage. CRABO (1965) bei Bulle und Eber, sowie WAITES und SETCHELL (1969) wiesen beim Schafbock nach, daß nahezu die gesamte Flüssigkeit, die in den Nebenhoden gelangt, in diesem Organ auch wieder resorbiert wird. Der größte Teil der aus dem Rete testis stammenden Flüssigkeit wird im proximalen Bereich des Nebenhodenkopfes resorbiert, wo auch die stärkste Blutversorgung des Organs festzustellen ist (BAMBERG, 1975). Durch die sekretorische und resorptive Aktivität des Epithels kommt es zu einer Änderung des Milieus im Nebenhodenlumen, was sich in einer Verminderung des pH-Wertes äußert,

der bei der Ratte von pH 7,4 im Hoden auf pH 6,6 - 6,5 im Nebenhodenkopf absinkt. COHEN und Mitarbeiter (1976), sowie LEVINE und KELLY (1978) vermuteten, daß dieser Vorgang durch die Carboanhydrase und den Transport von H^+ und HCO_3^- -Ionen hervorgerufen wird.

Das Verhältnis von Na^+ zu K^+ ist im Nebenhoden umgekehrt wie im Blut und Hoden. Im Nebenhodenschwanz findet man weniger Na^+ und sehr viel mehr K^+ als im Blutplasma.

Ebenfalls androgenabhängig ist die wichtigste Kraft, die die Spermien durch den Nebenhodengang treibt. Sie ist neuromuskulären Ursprungs und beruht auf spontanen, rhythmischen Kontraktionen der glatten Muskulatur des Nebenhodenkanals (HIB u. PONZIO, 1977).

2.1.5. Nebenhoden und Spermientransport

Der Zeitraum, der von den Spermien benötigt wird, um den gesamten Nebenhodenkanal zu passieren, ist von mehreren Faktoren abhängig, wie z.B. von der Rasse oder von der Ejakulationsfrequenz. Spermien, die aus dem Hoden in den Nebenhoden gelangen, zeigen keine Vorwärtsbewegung und besitzen noch keine Befruchtungsfähigkeit, sie erreichen diese erst während der Nebenhodenpassage (MANN u. LUTWAK-MANN, 1981). BEDFORD (1967) und ORGBIN-CHRIST (1969) wiesen experimentell mit Nebenhoden-Ligaturen bei Kaninchen nach, daß die Spermien zur Erlangung der Befruchtungsfähigkeit den proximalen Abschnitt des Nebenhodenkopfes durchwandern müssen. Die Befruchtungsergebnisse mit Nebenhodenspermien vom Eber sind bei Verwendung von Nebenhodenkopfspermien gering. Erfolgt die Besamung mit Nebenhodenkörperspermien, wird das Besamungsergebnis verbessert und ist bei Verwendung von Nebenhodenschwanzspermien am besten (MANN u. LUTWAK-MANN, 1981). KELAMI und Mitarbeiter (1977) konnten bei Inseminationsversuchen mit aus artifiziellen Spermatozelen gewonnenen Spermien aus dem Bereich des beginnenden Nebenhodenkörpers beim Minipig erfolgreiche Besamungen durchführen.

Die morphologischen Veränderungen, die das Spermium bei der Passage durch den Nebenhodenkanal erfährt, umfassen die Wanderung des

zytoplasmatischen Tröpfchens, die Verminderung des Zytoplasmas sowie eine Änderung von Größe, Form und Inhalt sowohl des Akrosoms als auch des Mittelstücks und der Spermiemembranen (GLOVER u. Mitarb., 1974), auch ändert sich in der Plasmamembran der Cholesterin- und Lecithin-Gehalt sowie das Verhältnis von gesättigten zu ungesättigten Fettsäuren (KILLIAN u. AMANN, 1973).

2.2. Das Akrosom

Unter dem Akrosom versteht man die membranbegrenzte Kopfkappe des Spermiums einschließlich ihres Inhalts. Die proakrosomalen Granula der jungen Spermatiden wandern während der Lageveränderung des Zellkerns zu seinem vorderen Pol, verschmelzen dort miteinander und breiten sich um den apikalen Kernteil aus (CLARA, 1966; DOTT u. DINGLE, 1968). Häufig entsteht das Akrosom seitlich des Zellkerns, wobei die Polarisierung des Spermiums wahrscheinlich durch Kernrotation bewirkt wird. Anschließend dehnt sich das Akrosom aus, bis etwa die Hälfte des Zellkerns kappenartig umfaßt wird (STARK, 1975).

Im Aufbau des Akrosoms unterscheidet man drei Teile. Ein dem vorderen Kernteil aufliegender Spitzenteil, ein sich auf den hinteren Kernteil erstreckendes Hauptstück und ein Äquatorialsegment. Dieses abgesetzte Äquatorialsegment engt den hinteren Kappenteil ein. Im Übergang vom Hauptstück zum Äquatorialsegment ist eine deutliche Verminderung der Akrosomen-Membranstärke sowie eine Konzentrierung des Akrosominhaltes zu erkennen (FAWCETT, 1970).

Am Akrosom unterscheidet man eine äußere und eine innere akrosomale Membran, die von der das gesamte Spermium umgebenden Plasmamembran umhüllt werden. Zwischen der äußeren und inneren akrosomalen Membran befindet sich der subakrosomale Raum, der mit lysosomalen Enzymen ausgestattet ist (ALLISON, 1967).

2.2.1 Kapazitation und Akrosomen-Reaktion

Nachdem die Spermien in den weiblichen Genitaltrakt gelangt sind, machen sie Prozesse durch, die als Kapazitation und als Akrosomen-Reaktion bezeichnet werden. Durch diese beiden Vorgänge erlangen die Spermien die Fähigkeit zur Fertilisation. AUSTIN (1969) bezeichnete diese physiologische Reifung der Spermien im weiblichen Genitaltrakt als Kapazitation. BEDFORD (1970) hatte Zusammenhänge zwischen dem Aufenthalt der Spermien im weiblichen Genitaltrakt und deren Befruchtungsfähigkeit festgestellt, was nach HARTMANN und GWATKIN (1971), JOHNSON und Mitarbeitern (1972) sowie GWATKIN und Mitarbeitern (1973) unter dem Einfluß der uterinen und tubalen Sekrete und auch von Substanzen der Eihüllen steht. Die Akrosomen-Reaktion, bei der BEDFORD (1970) eine "echte" und eine "falsche" unterscheidet, ist morphologisch sichtbar. Die "echte" Akrosomen-Reaktion findet immer in unmittelbarer Nähe des Eies statt und wird von BEDFORD (1969, 1970) wie folgt beschrieben: Zunächst kommt es zu einer allmählichen Auflösung der Plasma- und äußeren Akrosomen-Membran, die dann beide unter Bläschenbildung miteinander verschmelzen und eine aufgelockerte Hülle um den apikalen Kopfteil bilden. Die innere Akrosomen-Membran wird somit zur äußeren inaktiven Hülle des Spermiums, was für die Ablösung akosomaler, eihüllenauflösender Enzyme notwendig ist. Dann löst sich das Akrosom im Bereich des Äquatorialsegmentes ab.

Die "falsche" Akrosomen-Reaktion wird nach FRANKLIN und Mitarbeitern (1970) durch eine frühzeitige Ablösung der Plasmamembran charakterisiert und ist als degenerative Erscheinung nicht kapazitierter Spermien anzusehen. Kapazitation und Akrosomen-Reaktion sind nach AUSTIN (1969) eine Einheit, da durch die Kapazitation die Akrosomen-Reaktion erst ermöglicht werden soll.

Andererseits kann die Akrosomen-Reaktion *in vitro* durch verschiedene Inkubationsmedien hervorgerufen werden. Hierzu gehören Follikel-Flüssigkeit, Serum-Albumin, Ca-Ionen, kationische Ionophoren und der sogenannte Sperma-Mobility-Faktor, der auch im Nebenhodenplasma gefunden wird (YANAGIMACHI, 1975;

BAVISTER u. YANAGIMACHI, 1977; OLIPHANT u. Mitarb., 1977; GREEN, 1978a; PETERSON u. Mitarb., 1978 sowie BAVISTER u. Mitarb., 1978).

Der physiologische Faktor, der die Akrosomen-Reaktion sowie die Reaktionen zwischen Spermium und Zona pellucida und zwischen Spermium und Eizellmembran auslöst, ist unbekannt.

Hier könnten Ca-Ionen sowie ein Bestandteil der Follikelflüssigkeit eine Rolle spielen (CABOT u. OLIPHANT, 1978; YANAGIMACHI, 1978).

2.2.2. Die akrosomalen Enzyme

Experimente von HARTREE und SRIVASTAVA (1965) sowie SRIVASTAVA und Mitarbeitern (1965) bestärkten die Vermutung, daß akrosomale Enzyme an der Penetration der Spermien beteiligt sind. Weiterhin vertraten sie die Meinung, daß das Akrosom aufgrund seiner histochemischen Möglichkeiten sowie dem Vorhandensein von typischen Enzymen ein spezialisiertes Lysosom darstellt. Spätere Untersuchungen von ALLISON (1967) sowie von TEICHMANN und BERNSTEIN (1969) bestätigten diese Ansicht. Im Akrosom sind bislang folgende Enzyme gefunden worden: Saure Phosphatase (TEICHMANN u. BERNSTEIN, 1971); Saure Protease, Ribonuclease, Desoxyribonuclease, Beta-Glucuronidase und Glucosaminidase sowie die Hyaluronidase (ZANEVELD u. Mitarb., 1973a), ein Corona-penetrating-enzyme (ZANEVELD u. WILLIAMS, 1970; BRADFORD u. Mitarb., 1976), eine Spermienneuraminidase (FRITZ u. Mitarb., 1971) und die Spermienprotease Akrosin, früher auch "trypsin-like-enzyme" (TLE) genannt (HO u. MEIZEL, 1970; FRITZ u. Mitarb., 1971; FINK u. Mitarb., 1972; MEIZEL, 1972; POLAKOSKI u. Mitarb., 1972a).

Die Hyaluronidase ist in ihrer Wirkung wahrscheinlich nur auf die Zellen des Cumulus oophorus beschränkt, da diese zum größten Teil aus Mucopolysacchariden bestehen und dieses Enzym solche Verbindungen spalten kann (MANN, 1964). Die Isolierung von Hyaluronidase gelang STAMBAUGH und BUCKLEY (1969) aus Kaninchen-spermien als Komplex mit Akrosin. Dieser Komplex, der hauptsächlich aus Lipoglykoproteinen bestand, löste bei in-vitro-

Versuchen die Zona pellucida auf, wobei die Hauptwirkung vom Akrosin ausging. Kristalline Hyaluronidase wirkte nur auf die Zellen des Cumulus oophorus. Neuraminidase und Corona-penetrating-enzyme (CPE) wirken zusammen auf die Corona der Eizelle. Da nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen die Corona von den Spermien über die interzelluläre Substanz und nicht durch die Corona-Zellen selbst passiert wird, dürfte der Hauptangriffspunkt dieser Enzyme die Zwischenzellschicht sein.

STAMBAUGH und BUCKLEY (1969) wiesen das Spermienakrosom als Lokalisationsort eines hydrolytischen, trypsinähnlichen Enzyms nach, das schon früher von ihnen als Zona pellucida- und von anderen Autoren (YAMANE, 1935 a,b; WALDSCHMIDT u. Mitarb., 1966) als eihüllenauflösendes Enzym beschrieben worden war. Da die äußere Akrosomen-Membran vor Erreichen der Zona pellucida bereits abgelöst ist, mußte das Enzym mit der inneren akrosomalen Membran in Beziehung stehen (STAMBAUGH u. BUCKLEY, 1969; FAWCETT, 1970). Dieses von Inhibitoren reversibel gehemmte Enzym (STAMBAUGH u. BUCKLEY, 1972) wurde von SCHUMACHER und Mitarbeitern (1971) sowie von ZANEVELD und Mitarbeitern (1971a) als Akrosin bezeichnet.

2.3. Das akrosomale Enzym Akrosin

Die Spermienprotease Akrosin leitet sich von einer selbstaktivierenden zymogenen Form, dem Proakrosin ab (MEIZEL u. MUKERJI, 1975 u. 1976; POLAKOSKI u. PARRISH, 1977).

Diese inaktive Vorstufe des Akrosins liegt bei intakten Spermien vor und die Zerstörung der Spermien bewirkt eine schnelle Umwandlung des Proakrosins in die aktive Form, das Akrosin (BROWN u. HARRISON, 1978). Das mit der Zerstörung der Spermienköpfe vergleichbare Ereignis in vivo ist die Akrosomen-Reaktion, so daß vermutet werden kann, daß die Umwandlung von Proakrosin zu Akrosin ein Ergebnis dieser Reaktion ist (POLAKOSKI u. Mitarb., 1977; BROWN u. HARRISON, 1978). GREEN (1978b) stellte

einen Anstieg der Akrosin-Aktivität im Verlauf der Akrosomen-Reaktion fest, was seiner Meinung nach ziemlich sicher einer Aktivierung des zymogenen Vorläufers des Akrosins, dem Proakrosin, entspricht. Die Art und Weise der stattfindenden Aktivierung scheint nicht eindeutig geklärt, hier wird von POLAKOSKI und McRORIE (1973) eine Autoaktivierung durch das Akrosin selbst vermutet.

BROWN und HARRISON (1978) vermuteten, daß die Proakrosinaktivierung bei inaktiven Spermien von einem Sperma-Akrosin-Inhibitor gehemmt wird, dessen Konzentration bei der Zerstörung der Spermienmembran abnimmt und somit eine Aufhebung der Hemmung stattfindet. Die Autoaktivierung kann dann nach Verminderung der Inhibitoren-Konzentration stattfinden.

Eine Rolle bei der Umwandlung von Proakrosin zu Akrosin könnte den Polyaminen zukommen. PARRISH und POLAKOSKI (1977) zeigten, daß Polyamine die Enzymaktivität von Eberakrosin stimulieren, aber die Umwandlung von Eberproakrosin zu Akrosin hemmen. Den größten Einfluß hat das Spermin, das in Spermien die höchste Konzentration von allen Polyaminen aufweist.

1979 fanden HARRISON und BROWN Proakrosin in Hoden, Nebenhoden und Ejakulat-Spermien, wobei die Aktivierungszeit bei allen Spermien gleich war. Allerdings traten bei den einzelnen Fraktionen Unterschiede in den Proakrosin-Mengen auf. Während Nebenhoden- und Ejakulat-Spermien etwa gleich große Proakrosin-Werte zeigten, wurden bei Hoden-Spermien deutlich geringere Werte gefunden.

2.3.1. Biochemische Charakterisierung des Akrosins

Die früher für das Enzym Akrosin verwendete Bezeichnung "trypsin-like-enzyme" (TLE) beruht auf der Substratspezifität und Affinität zu natürlich vorkommenden und synthetisch hergestellten Trypsin-Inhibitoren. Unterschiedliche Angaben sind bei der Bestimmung des Molekular-Gewichtes zu finden. POLAKOSKI und Mitarbeiter (1972a), FRITZ und Mitarbeiter (1972a) sowie ZANEVELD und Mitarbeiter (1972b) gaben ein Mole-

kulargewicht von 30 000 an, wobei die Annahme besteht, daß es sich hier um ein Gemisch aus Iso-Enzymen handelt (HO u. MEIZEL, 1970; GARNER u. Mitarb., 1971).

PARRISH und POLAKOSKI (1978) stellten fest, daß Akrosin bei einem pH von 2,6 mit anderen Proteinen assoziieren kann und somit durch die Komplexbildung ein höheres Molekulargewicht vorgetäuscht werden kann.

BHATTACHARYYA und ZANEVELD (1982) gaben verschiedene Molekulargewichte für Proakrosin- und Akrosinformen bei der gleichen Tierart an. Die Differenzen der Molekulargewichte entstehen in den meisten Fällen durch Abspaltung von Peptiden, ohne daß die katalytischen Eigenschaften der Enzyme verlorengehen.

SCHLEUNING und Mitarbeiter (1975) bezifferten das Molekulargewicht auf 38.000, während von MÜLLER (1978) ein Molekulargewicht von 41.000 angegeben wird.

Die Proteinase ist säurestabil und hat ein Wirkungsoptimum beim pH 8,0, was sie vom sauren pH-Optimum anderer lysosomaler Enzyme unterscheidet. Deshalb sahen ALLISON und HARTREE (1969) das Akrosom der Spermien auch als modifiziertes Lysosom an.

2.3.2. Funktion des Akrosins

Was die funktionellen Eigenschaften des Akrosin betrifft, so scheint heute sicher, daß das Akrosin identisch ist mit dem sogenannten Zona-Lysin. Von diesem Zona-Lysin wurde vermutet, daß es sich im vorderen Bereich des Akrosoms befindet und an der Befruchtung beteiligt ist, indem es das Spermium befähigt, die Zona pellucida zu passieren (AUSTIN u. BISHOP, 1958). Die Wirkung des Akrosins auf die Zona pellucida des Eies wird bestärkt durch in-vitro-Versuche, bei denen nur mit Trypsin die Zona enzymatisch aufgelöst werden konnte (HARTMANN u. GWATKIN, 1971; GWATKIN u. Mitarb., 1973).

Die Protease Akrosin hat trypsinähnliche Eigenschaften (ZANEVELD u. Mitarb., 1969 u. 1972a; FRITZ u. Mitarb., 1972a; FINK u. Mitarb., 1972).

Es ist jedoch nicht die gelöste Form des Enzyms, sondern das

an die innere akrosomale Membran gebundene Akrosin, von dem angenommen wird, daß es an der Auflösung der Zona pellucida beteiligt ist.

Die anderen umgebenden Membranen des Akrosoms sind schon vor Erreichen der Zona aufgelöst (GWATKIN u. Mitarb., 1973). Weiterhin sprechen Versuche mit Trypsin-Inhibitoren (STAMBAUGH u. BUCKLEY, 1968; ZANEVELD u. Mitarb., 1971b), die die Auflösung der Zona durch akrosomale Spermienextrakte in vitro verhindern und auch das Befruchtungsvermögen kapazitierter Spermien stark einschränken, für die Beteiligung des Akrosins an der Auflösung der Zona pellucida (ZANEVELD u. Mitarb., 1971b; FRITZ u. Mitarb., 1971; SUOMINEN u. Mitarb., 1973).

Eine weitere Aufgabe des Akrosins liegt wohl in der Mitwirkung beim Polyspermieblock. Hierbei kommt es nach der Penetration des befruchtenden Spermiums zu einer Blockierung der Passage der Zona pellucida für andere Spermien. Vermutlich handelt es sich bei diesem Vorgang um eine enzymatisch induzierte Änderung eines Rezeptorsystems an der Eihülle, wobei die Ursache der Änderung die Aktivierung der corticalen Granula ist.

Die Beziehung des Akrosins zum Kinin-Kallikrein-System ist ein weiterer Bestandteil seiner Funktion. Bradikinin ist unter bestimmten Umständen fähig, die Spermienmotilität zu stimulieren, und Kallikrein erhöht schon bei einer Konzentration von 10^{-8} Mol/l die Anzahl der beweglichen und der gut vorwärts beweglichen Spermien bei menschlichen Samen mit abnorm niedriger Motilität. Außerdem erhöht Kallikrein die Penetrationsrate der Spermien bei der Cervical-Mucus-Passage (MANN u. LUTWAK-MANN, 1981). LEIDL und Mitarbeiter (1975) vermuteten, daß Akrosin über das Kinin-Kallikrein-System die Beweglichkeit von Bullenspermien beeinflusst. Weiterhin ist die kininfreisetzende Wirkung des Eberakrosins in vitro nachgewiesen worden (PALM u. Mitarb., 1976).

2.3.3. Akrosin-Inhibitoren

In den letzten Jahren wurden verschiedene Inhibitoren aus dem Seminal-Plasma von Mensch und Eber isoliert (FRITZ u. Mitarb., 1972b u. 1975). Beim Schafbock und Eber wurden außerdem Trypsin-Inhibitoren in der Rete testis-Flüssigkeit entdeckt (SUOMINEN u. SETCHELL, 1972). Gebildet werden diese Inhibitoren nach SCHILL und Mitarbeitern (1975) in den Epithelzellen des Nebenhodenschwanzes, des Ductus deferens, der Samenblasen sowie der Urethra. Auch in der Prostata wurden Epithelzellen nachgewiesen, die Inhibitoren sezernieren. WEBER (1975) fand, daß die Inhibitor-Aktivität im Nebenhoden- und Samenblasensekret hormongesteuert ist.

ZIMMERMANN und BURCK (1978) fanden bei ihren Versuchen mit Eber- und Kaninchen-Spermien einen Akrosin-Inhibitor, der sich von den übrigen Inhibitoren durch das sehr niedrige Molekulargewicht von 2.000 und seine Hemmspezifität unterscheidet. Dieser nicht spezies-spezifische Inhibitor erzeugte keine Hemmung von Trypsin, so daß er auch als akrosinspezifisch bezeichnet werden kann. Mit Ejakulatspermien des Kaninchens, die diesen niedermolekularen Inhibitor enthalten, zeigten ZIMMERMANN und BURCK (1978), daß nach 8-stündiger Inkubation im Uterus der Inhibitor nicht mehr vorhanden ist und daß somit diese Spermien befruchten können. Werden aber nun diese in utero inkubierten Spermien für 30 Minuten ins Ejakulat zurückgebracht, geht die Befruchtungsfähigkeit wieder verloren. Die Autoren vermuteten, daß das Akrosin von einem niedermolekularen Inhibitor im Akrosom gehemmt wird. Während der Kapazitation verschwindet dieser Inhibitor und verbindet sich wahrscheinlich mit einem Protein, das die Rückkehr durch die akrosomale Membran verhindert. Auch BROWN und HARTREE (1975) wiesen auf einen akrosomalen Inhibitor hin, der gelöstes Akrosin besonders stark hemmt. Gebundenes Akrosin wurde erst bei hohen Konzentrationen des Inhibitors in seiner Aktivität eingeschränkt (HARTREE, 1977).

2.3.4. Nachweismethoden (Extraktionsverfahren)

Um das in den Kopfkappen befindliche Akrosin zu extrahieren, wurde mit Hilfe von chemischen oder mechanischen Behandlungen versucht, die äußeren umgebenden Membranen der Kopfkappe durchlässiger zu machen. Die anfänglichen Methoden beruhten auf einer mechanischen Bearbeitung der gewaschenen Spermien-Sedimente mit Hilfe von Glasperlen und einer darauffolgenden Extraktion des Inhaltes mit alkalischen Lösungen. Hierbei handelte es sich um Pufferlösungen (pH 7,5), die mit den Detergentien Hyamin oder Triton X-100 versetzt wurden (HO u. MEIZEL, 1970; PEDERSEN, 1972; POLAKOSKI u. Mitarb., 1972a; ZANEVELD u. Mitarb., 1972a u. 1972b). Weitere Versuche, das Akrosin aus dem Akrosom zu isolieren, wurden mit Schockgefrieren und anschließendem Wiederauftauen ejakulierter gewaschener Spermien durchgeführt (PEDERSEN, 1972). Die bei diesen Methoden aus ejakulierten Spermien gemessenen Enzym-Aktivitäten waren allerdings sehr gering, so daß immer große Spermienmengen eingesetzt werden mußten. Später gelang es POLAKOSKI und Mitarbeitern (1972b) sowie ZANEVELD und Mitarbeitern (1973b) mit Molekular-Sieben (Diäthylaminoäthylzellulose, Sephadex) höhere Enzymmengen zu gewinnen. Als FINK und Mitarbeiter (1972) sowie FRITZ und Mitarbeiter (1972a) herausfanden, daß freies Akrosin in basischem und neutralem Milieu einen reversiblen Komplex mit Seminalplasma-Inhibitoren bildet, führten FINK und Mitarbeiter (1972) die Extraktion bei Ejakulatspermien mit etwa 2%iger Essigsäure (pH 1,8 - 2,2) durch und erhielten eine um ca. 40% höhere Aktivität als bei der Verwendung pufferhaltiger Detergentien. Nach FINK und Mitarbeitern (1972) bewirkt der saure pH-Wert der Essigsäure eine Dissoziation des Akrosin-Inhibitor-Komplexes sowie ein Verbleiben des Enzyms in einer stabilen inaktiven Form. WOLF und SCHILL (1975) stellten eine völlige Ablösung der Plasma- und äußeren Akrosomen-Membran durch die Einwirkung der Essigsäure fest. Die innere Akrosomen-Membran mit dem Akrosin bleibt aber bei der Einwirkung von Essigsäure erhalten. Durch die besonders hohe Enzymausbeute bei der sauren Extraktion ist es möglich, eine

Bestimmung im Einzelejakulat durchzuführen, im Gegensatz zu früheren Untersuchungen, bei denen die Bestimmung wegen der notwendigen großen Spermienzahlen nur an Sammelejakulaten möglich war. Zur photometrischen Bestimmung des Akrosins wurden bedingt durch seine trypsinähnlichen Eigenschaften (ZANEVELD u. Mitarb., 1972a) hauptsächlich synthetische Trypsin-Substrate verwendet, die proportional der eingesetzten Menge gespalten wurden. Als gut geeignet hat sich BAEE (N-alpha-benzoyl-arginin-äthyl-Ester) erwiesen, was für Akrosin eine sehr große Empfindlichkeit aufweist.

Die Akrosin-Aktivität kann im einfachen Test-System photometrisch bei 253 nm (SCHWERT u. TAKENAKA, 1955; POLAKOSKI u. Mitarb., 1977 ; GOODPASTURE, 1981) über die Hydrolyse des BAEE festgestellt werden, oder aber im kombinierten Test-System unter Zuhilfenahme von Coenzymen, was nach SCHILL (1974) 3mal empfindlicher als die direkte Methode ist. Dieses kombinierte BAEE/ADH (Alkohol-Dehydrogenase)Test-System beruht auf 2 enzymatischen Schritten. Als erstes wird das trypsinspezifische Substrat BAEE durch das Akrosin gespalten, wobei Äthanol entsteht. Darauf wird mit Hilfe der Alkoholdehydrogenase und des Coenzym NAD (Nikotinamid-Dinucleotid) NADH (Nikotinamid-Dinucleotid-Wasserstoff) gebildet, das bei 366 nm photometrisch bestimmt wird. SCHILL (1974) führte die Messungen bei +25°C und pH 8,5 über einen Zeitraum von 10 Minuten durch. Die festgestellte Fehlerbreite dieses Verfahrens lag bei 7%. Zu berücksichtigen ist bei der Aktivitätsbestimmung mit Hilfe der sauren Extraktion und der photometrischen Auswertung, daß ein großer Teil der Akrosinaktivität durch Adsorption an Glasoberflächen verlorengeht (POLAKOSKI u. Mitarb., 1972a) was durch die Verwendung von Plastik- oder silikonisierten Glasgeräten verhindert wird (SCHIEBLER u. Mitarb., 1972).

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Tiermaterial

Für die Durchführung der Versuche wurden die Hoden von 20 Bullen, 20 Ebern und 20 Schafböcken verwertet.

Das Alter der Bullen lag zwischen 2 und 3 Jahren, das der Schafböcke zwischen 1 und 3 Jahren. Die Eber lagen im Alter zwischen 6 Monaten und 6 Jahren.

Die Bullen gehörten der Deutschen Schwarz-Bunten Rasse an, die Schafböcke waren Deutsche Schwarzköpfige Fleischschafe, und bei den Ebern handelte es sich um Tiere der Deutschen Landrasse.

Die Hoden der Bullen und Schafböcke stammten von Schlachttieren, während die Eberhoden von Tieren stammten, die zur Kastration in der Klinik standen.

3.1.2. Spermengewinnung

Die Verarbeitung der Hoden erfolgte bei Bullen und Schafböcken spätestens eine Stunde nach der Schlachtung, wobei der Transport vom Schlachthof zur Klinik in Thermosbehältnissen durchgeführt wurde, die eine Innentemperatur von $+30^{\circ}\text{C}$ aufwiesen. Die Eberhoden konnten sofort nach dem Absetzen vom Tier verarbeitet werden.

Die Nebenhoden wurden von den Hoden abgelöst, gewogen und die einzelnen Nebenhodenabschnitte voneinander getrennt.

Bei den Nebenhodenschwänzen konnten die Spermien meist durch Anschneiden und Ausdrücken des Nebenhodengewebes gewonnen werden. Nebenhodenkopf und Nebenhodenkörper wurden unter Vermeidung von Blutbeimengungen in kleinste Gewebestückchen zerschnitten und in Reagenzgläser verbracht. Nach Zugabe von jeweils 3 ml physiologischer Kochsalzlösung wurden die Spermien durch Schütteln und Rühren ausgewaschen. Der spermienhaltige Überstand wurde in Eppendorf-Reaktionsgefäße dekantiert.

3.1.3. Gewinnung des Akrosomen-Extraktes

Die Extraktion des Akrosins aus den Nebenhodenspermien wurde

unter Verwendung von Plastikgefäßen zur Vermeidung der Oberflächenadsorption des Akrosins wie folgt durchgeführt:
Die aus den einzelnen Nebenhodenabschnitten gewonnenen Spermien wurden viermal in je 1 ml physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und anschließend 30 Sekunden bei 12.000 g zentrifugiert. Der jeweilige gewebehaltige Überstand wurde verworfen. Anschließend wurde die gereinigte Spermienfraktion mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und die Dichte dieser Spermien-suspension mit Hilfe der Zählkammer bestimmt. Ca. 100 Millionen Spermien wurden mit 0,5 ml 2%iger Essigsäure versetzt und 3 Stunden im Kühlschrank bei + 4°C gelagert. Während dieser Zeit fand die Extraktion des Akrosins statt. Die für die Extraktion von Wiederkäuer-Spermien verwendete Essigsäure hatte einen pH-Wert von 2,6 und bei Eber-Spermien einen pH-Wert von 2,2. Nach der Lagerung im Kühlschrank wurde die Spermien-suspension über 3 Minuten bei 12.000 g zentrifugiert. Mit dem gewonnenen Überstand (Akrosin-Extrakt) wurde die photometrische Bestimmung vorgenommen.

3.1.4. Quantitative photometrische Akrosin-Bestimmung (modifiziert nach SCHILL, 1974)

Als Testsystem für den Nachweis der Akrosinaktivität wurde der kombinierte BAEE/ADH-Test verwendet. Dieser Test beruht auf 2 enzymatischen Schritten:

BAEE wird vom Akrosin unter Freisetzung von Äthanol gespalten, der durch die Alkoholdehydrogenase mit Hilfe des Coenzym NAD^+ über die Bildung von NADH bei Hg 365 nm photometrisch bestimmt wird.

- a) Benzoyl-L-arginin-äthylester $\xrightarrow{\text{Akrosin}}$ Benzoyl-L-arginin + Äthanol
b) Äthanol + NAD^+ $\xrightarrow{\text{ADH}}$ Acetaldehyd + NADH + H^+

Verwendete Reagenzien

1. BAEE (N-alpha-Benzoyl-arginin-äthylester) 10 mg/10 ml H_2O (MERCK)
2. NAD^+ (beta-Nicotinamid-adenin-dinucleotid) 40 mg/ 2 ml H_2O (BOEHRINGER)

3. ADH (Alkoholdehydrogenase) konzentrierte Suspension
(BOEHRINGER)

4. Phosphatpuffer:

3,04 g	Natriumpyrophosphat (MERCK)
0,82 g	Semicarbazid (MERCK)
0,18 g	Glycin (MERCK)
ad 100 ml	H ₂ O
pH 8,7 (eingestellt mit 1n NaOH)	

Sämtliche Reagenzien wurden, wie auch der Akrosomen-Extrakt,
bei + 4°C gelagert.

Testansatz (ausreichend für 6 Proben):

4,8	ml Pufferlösung
1,0	ml BAEE
0,2	ml NAD
0,04	ml ADH

In jede Küvette wurden nach einer Inkubationszeit von 5 Minuten bei + 25°C 1,0 ml des Testansatzes sowie 0,2 ml des Akrosomen-Extraktes pipettiert. Gemessen wurde in einminütigem Abstand über einen Zeitraum von 9 Minuten. Die photometrischen Messungen zur Enzymaktivitätsbestimmung wurde mit einem Digital-Photometer der Firma Dr. LANGE durchgeführt. Die Errechnung der Akrosinaktivität der vorliegenden Proben wurde mit Hilfe eines Umrechnungsfaktors ($0,0011 \Delta_E = 1 \text{ mU}$, d.h., 1 mU Akrosin entspricht einer Extinktionsänderung von $0,0011 \Delta_E/\text{min}$) sowie unter Berücksichtigung der eingesetzten Menge (Essigsäure, Akrosomen-Extrakt) durchgeführt.

$$\frac{\Delta_E \text{ Probe/min.} \times \text{Verdünnung} \times \text{Einsatzmenge}}{\text{Faktor } 0,0011} = \text{mU Akrosin}/10^8 \text{ Spermien}$$

Verdünnung = eingesetzte Essigsäure in ml

Einsatzmenge = bezogen auf 1 ml = $\frac{1 \text{ ml}}{0,2 \text{ ml}}$

1 ml Einsatzmenge = Akrosomen-Extrakt von 100 Millionen Spermien

Das Ergebnis wurde in $\text{U}/10^8$ Spermien angegeben.

3.2. Versuchsergebnisse

Zu den photometrisch gemessenen Akrosinaktivitäten der Spermien wurden zusätzlich noch allgemeine Daten wie Schlacht- bzw. Körpergewichte, Hoden- und Nebenhodengewichte sowie Alter und Rasse der einzelnen Tiere erfaßt. Die Ergebnisse sind für jedes Tier getrennt in den Tabellen 1-15 dargestellt.

3.2.1. Ergebnisse: Bullenspermien

Wie aus den Tabellen 1-5 zu ersehen ist, bewegten sich die Akrosinaktivitäten der Spermien in den rechten Nebenhodenköpfen zwischen 0,0795 und 0,3182 U/10⁸ Spermien, die entsprechenden Werte für die linken Nebenhodenköpfe lagen zwischen 0,0819 und 0,2654 U/10⁸ Spermien.

In der Abbildung 1 sind die Akrosin-Werte für beide Nebenhoden jedes Bullen aufgezeichnet. Diese Form der Darstellung ermöglicht zu erkennen, auf welcher Nebenhodenseite die höheren Enzymwerte für jeden Bullen liegen. Hieraus ist zu erkennen, daß bei 11 Bullen die höheren Spermien-Akrosinaktivitäten in den linken Nebenhodenköpfen lagen, während dies auf der rechten Seite nur bei 9 Bullen der Fall war.

Die gemessenen Akrosinaktivitäten der Spermien in den rechten Nebenhodenkörpern bewegten sich zwischen 0,1725 und 0,4185 U/10⁸ Spermien (Tabellen 1-5). Die entsprechenden Werte für die linken Nebenhodenkörper lagen zwischen 0,1548 und 0,5200 U/10⁸ Spermien.

In der Abbildung 2 sind die Akrosin-Werte jedes Bullen für beide Nebenhoden dargestellt. Hieraus ist zu erkennen, daß bei 15 Bullen die höheren Akrosinaktivitäten in den linken Nebenhodenkörpern vorlagen und nur in 5 Fällen auf der rechten Seite.

Bei Spermien aus den rechten Nebenhodenschwänzen bewegten sich die gemessenen Akrosinaktivitäten zwischen 0,0607 und 0,3314 U/10⁸ Spermien (Tabellen 1-5). Die entsprechenden Werte für die linken Nebenhodenschwänze lagen zwischen 0,0484 und 0,2504 U/10⁸ Spermien.

In der Abbildung 3 sind für jeden Bullen die Akrosin-Werte der rechten und linken Nebenhoden eingezeichnet. Daraus geht hervor, daß bei 11 Bullen die höheren Akrosin-Werte in den linken Nebenhodenschwänzen ermittelt wurden, während bei 9 Bullen dieses in den rechten Nebenhodenschwänzen der Fall war.

In der Abbildung 4 sind die Akrosinaktivitäten jedes Bullen jeweils für Nebenhodenkopf-, Nebenhodenkörper- und Nebenhodenschwanzspermien als Verlauf nach linken und rechten Nebenhoden getrennt, dargestellt. Hieraus ist zu erkennen, daß, mit ganz wenigen Ausnahmen, auf der linken wie auch auf der rechten Seite die Enzymaktivität vom Nebenhodenkopf zum Nebenhodenkörper ansteigt, um zum Nebenhodenschwanz meist unter das Niveau des Nebenhodenkopfes abzufallen.

Wie aus den Enzymwerten der Tabelle 1 zu ersehen ist, ist beim Bullen Nr. 2 im linken Nebenhoden vom Nebenhodenkopf ($0,2359 \text{ U}/10^8$ Spermien) über den Nebenhodenkörper ($0,2134 \text{ U}/10^8$ Spermien) zum Nebenhodenschwanz ($0,1679 \text{ U}/10^8$ Spermien) eine Verringerung der Aktivität zu erkennen, die auch beim Bullen Nr. 3 mit Werten von $0,2679 \text{ U}/10^8$ Spermien im rechten Nebenhodenkopf über $0,1939 \text{ U}/10^8$ Spermien im Nebenhodenkörper auf $0,0878 \text{ U}/10^8$ Spermien im Nebenhodenschwanz absank. Eine weitere Ausnahme bildete der stetige Aktivitätsanstieg im linken Nebenhoden vom Bullen-Nr. 18 mit den Werten von $0,1943 \text{ U}/10^8$ Spermien im Nebenhodenkopf auf $0,2241 \text{ U}/10^8$ Spermien im Nebenhodenkörper auf $0,2366 \text{ U}/10^8$ Spermien im Nebenhodenschwanz.

In der Abbildung 5 sind die Aktivitätsspannen und -niveaus (Spanne zwischen niedrigstem und höchstem Enzymwert) für die Akrosin-Werte eines jeden Bullen nach Nebenhodenseiten getrennt dargestellt. Hieraus ist zu ersehen, daß die Aktivitätsspannen und -niveaus für das Akrosin bei den einzelnen Bullen größere Unterschiede aufweisen als beim Vergleich der einzelnen Nebenhodenseiten eines jeden Bullen untereinander.

Nummer	1		2		3		4	
Rasse	Schwarz-Bunt		Schwarz-Bunt		Schwarz-Bunt		Schwarz-Bunt	
Alter	2 Jahre		2 1/2 Jahre		2 Jahre		2 1/2 Jahre	
Schlachtgewicht	362 kg		312,5 kg		337 kg		232,5 kg	
Hoden- gewicht	re.	358,0 g	307,0 g		245,1 g		240,1 g	
	li.	335,9 g	308,2 g		253,7 g		262,0 g	
Nebenhoden- gewicht	re.	31,4 g	31,3 g		25,2 g		26,1 g	
	li.	33,3 g	28,9 g		27,9 g		27,3 g	
Aktivität in U/10 ⁸ Spermien	re.	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li.
Nebenhodenkopf	0,1942	0,2224	0,1933	0,2359	0,2679	0,1455	0,0795	0,0966
Nebenhodenkörper	0,2657	0,3279	0,3037	0,2134	0,1939	0,2357	0,2086	0,2145
Nebenhodenschwanz	0,1456	0,1295	0,1677	0,1679	0,0878	0,1107	0,0657	0,0484

Tab. 1 Akrosinaktivitäten von Nebenhodenspermien bei den Bullen 1-4

Nummer	5		6		7		8	
Rasse	Schwarz-Bunt		Schwarz-Bunt		Schwarz-Bunt		Schwarz-Bunt	
Alter	2 Jahre		2 Jahre		2 1/2 Jahre		2 Jahre	
Schlachtgewicht	276,0 kg		323 kg		245,0 kg		367,0 kg	
Hoden- gewicht	re.	289,8 g	181,3 g		168,5 g		225,3 g	
	li.	278,3 g	191,5 g		182,3 g		234,7 g	
Nebenhoden- gewicht	re.	25,0 g	25,8 g		20,7 g		27,3 g	
	li.	24,8 g	26,0 g		21,2 g		29,3 g	
Aktivität in U/10 ⁸ Spermien	re.	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li.
Nebenhodenkopf	0,0989	0,1055	0,1961	0,1987	0,2508	0,2448	0,1520	0,2017
Nebenhodenkörper	0,2252	0,2190	0,2294	0,2683	0,4185	0,5200	0,2581	0,2748
Nebenhodenschwanz	0,0563	0,0675	0,1564	0,0712	0,1207	0,1617	0,0878	0,0796

Tab. 2 Akrosinaktivitäten von Nebenhodenspermien bei den Bullen 5-8

Nummer	9		10		11		12	
Rasse	Schwarz-Bunt		Schwarz-Bunt		Schwarz-Bunt		Schwarz-Bunt	
Alter	2 Jahre		2 1/2 Jahre		2 1/2 Jahre		2 Jahre	
Schlachtgewicht	248,5 kg		268,5 kg		332,0 kg		258,0 kg	
Hoden- gewicht	re.	250,1 g	302,2 g		261,2 g		228,7 g	
	li.	258,7 g	303,8 g		254,6 g		220,0 g	
Nebenhoden- gewicht	re.	28,1 g	29,0 g		26,7 g		24,3 g	
	li.	27,4 g	24,1 g		26,7 g		23,9 g	
Aktivität in U/10 ⁸ Spermien	re.	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li.
Nebenhodenkopf	0,1977	0,1915	0,3182	0,2654	0,2370	0,2541	0,1936	0,1171
Nebenhodenkörper	0,2957	0,3524	0,3464	0,4187	0,2909	0,2560	0,2038	0,1662
Nebenhodenschwanz	0,1139	0,1640	0,3314	0,2504	0,1570	0,1408	0,1400	0,0870

Tab. 3 Akrosinaktivitäten von Nebenhodenspermien bei den Bullen 9 - 12

Nummer	13		14		15		16	
Rasse	Schwarz-Bunt		Schwarz-Bunt		Schwarz-Bunt		Schwarz-Bunt	
Alter	2 Jahre		2 Jahre		3 Jahre		3 Jahre	
Schlachtgewicht	267,5 kg		348,5 kg		288,0 kg		362,0 kg	
Hoden- gewicht	re.	220,8 g	267,0 g		245,0 g		297,1 g	
	li.	225,5 g	268,6 g		269,2 g		273,7 g	
Nebenhoden- gewicht	re.	27,0 g	30,3 g		26,1 g		30,2 g	
	li.	27,1 g	28,9 g		30,0 g		31,4 g	
Aktivität in U/10 ⁸ Spermien	re.	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li.
Nebenhodenkopf	0,2184	0,1617	0,1220	0,1651	0,1702	0,1302	0,1012	0,1837
Nebenhodenkörper	0,2311	0,3123	0,2371	0,2315	0,1784	0,1924	0,2005	0,2656
Nebenhodenschwanz	0,1154	0,1342	0,1421	0,1379	0,0732	0,1041	0,0671	0,1170

Tab. 4 Akrosinaktivitäten von Nebenhodenspermien bei den Bullen 13 - 16

Nummer	17		18		19		20	
Rasse	Schwarz-Bunt		Schwarz-Bunt		Schwarz-Bunt		Schwarz-Bunt	
Alter	2 1/2 Jahre		2 Jahre		2 Jahre		2 Jahre	
Schlachtgewicht	384,0 kg		305,0 kg		279,0 kg		284,5 kg	
Hoden- gewicht	re.	269,2 g	261,9 g		279,5 g		254,0 g	
	li.	297,0 g	256,4 g		271,6 g		269,8 g	
Nebenhoden- gewicht	re.	29,1 g	28,9 g		29,0 g		30,3 g	
	li.	25,0 g	25,0 g		28,3 g		31,0 g	
Aktivität in U/10 ⁸ Spermien	re.	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li.
Nebenhodenkopf	0,1118	0,0819	0,1617	0,1943	0,1626	0,1454	0,1966	0,2023
Nebenhodenkörper	0,1725	0,1548	0,2851	0,2241	0,2736	0,3627	0,3417	0,3742
Nebenhodenschwanz	0,0607	0,0765	0,1494	0,2366	0,1052	0,1421	0,1199	0,2005

Tab. 5 Akrosinaktivitäten von Nebenhodenspermien bei den Bullen 17 - 20

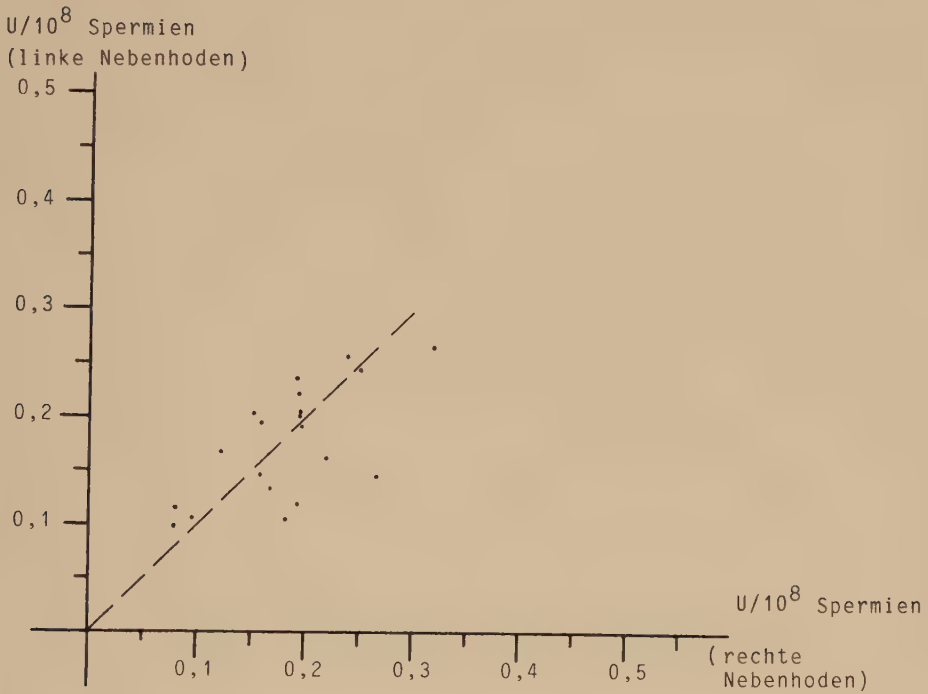


Abb. 1 Akrosinaktivitäten von Spermien aus den linken und rechten Nebenhodenköpfen von 20 Bullen.

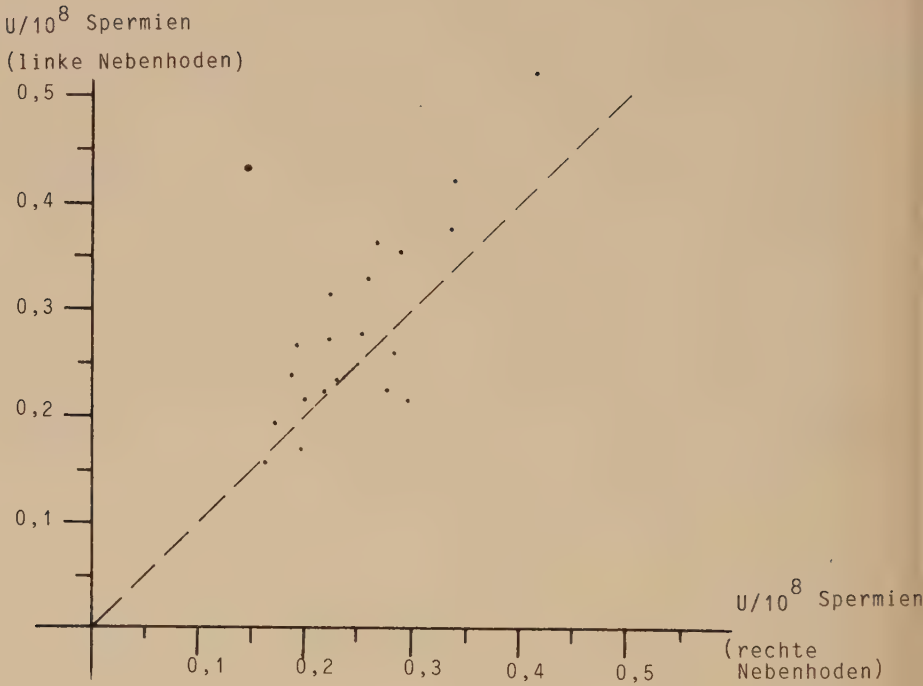


Abb. 2 Akrosinaktivitäten von Spermien aus den
linken und rechten Nebenhodenkörpern
von 20 Bullen

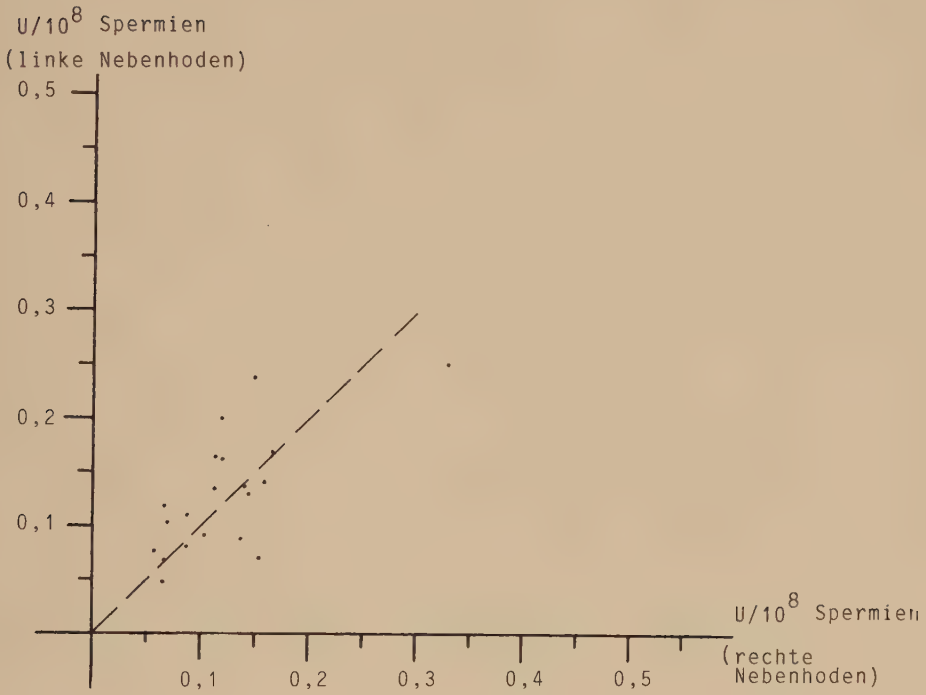


Abb. 3 Akrosinaktivitäten von Spermien aus den linken und rechten Nebenhodenschwänzen von 20 Bullen

$U/10^8$ Spermien

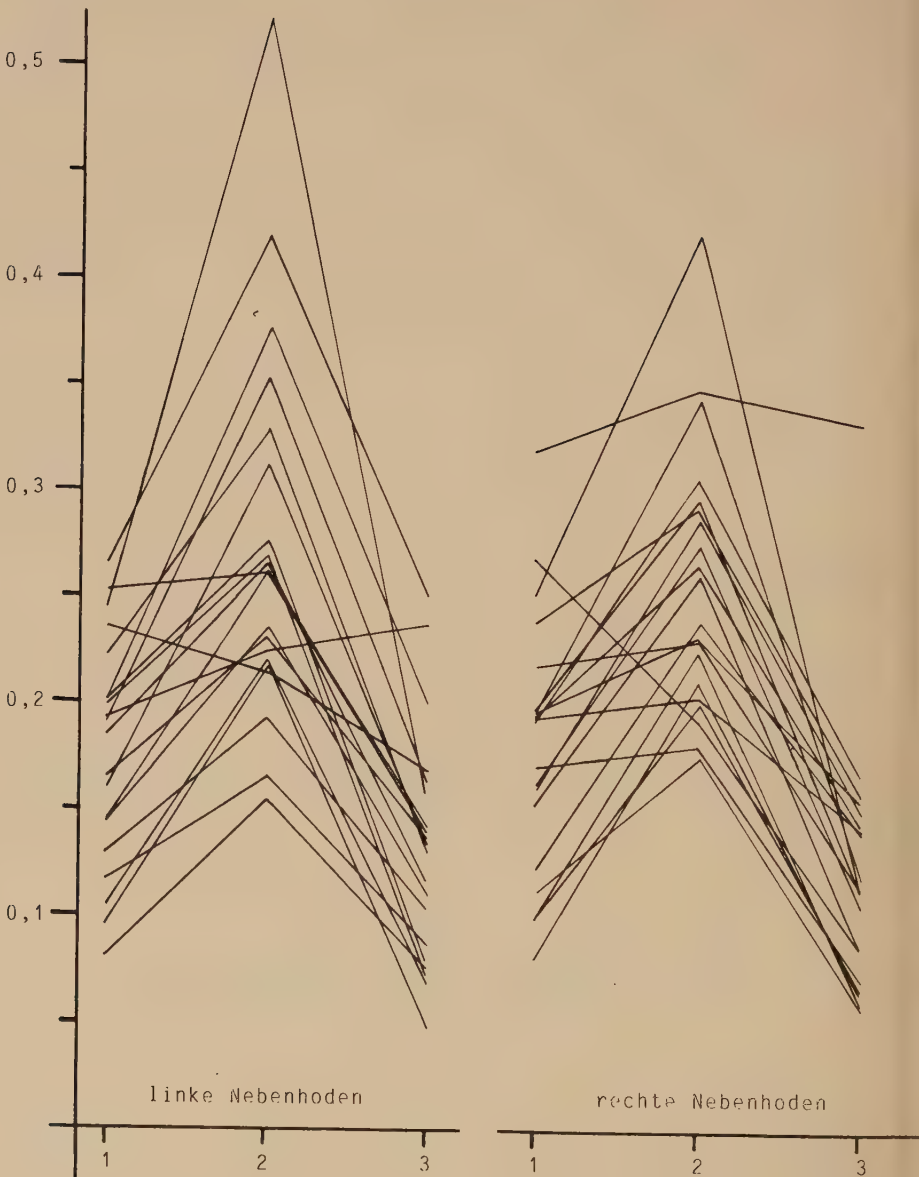


Abb. 4

Aktivitäten des Akrosins im Verlauf der Nebennodenzugabe bei Bullen.
(n = 20)

1=Nebenhodenkopf
2=Nebenhodenkörper
3=Nebenhodenschwanz

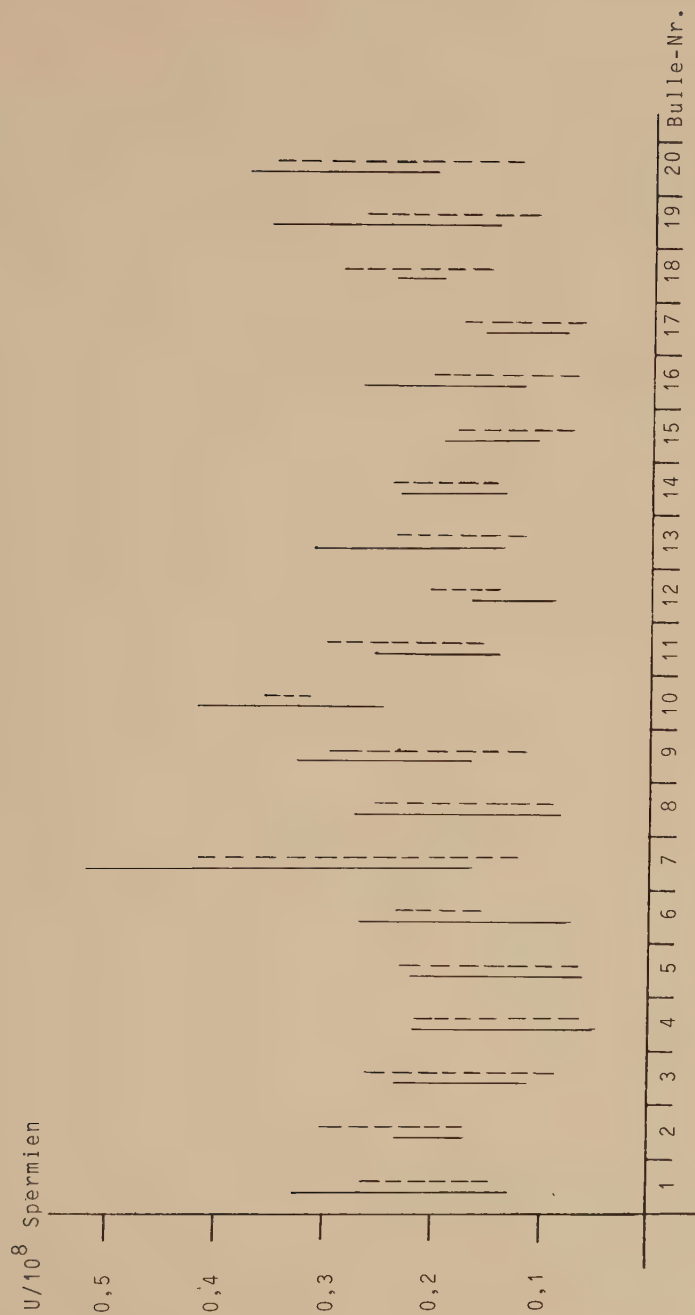


Abb. 5 Aktivitätsspannen und Aktivitätsniveaus für
das Akrosin in Spermien aus linken und rechten
Nebenhoden von Bullen. (n = 20)

— linke Nebenhoden
----- rechte Nebenhoden

3.2.2. Ergebnisse: Eberspermien

Die bei den Spermien aus den rechten Nebenhodenhäufchen gemessenen Akrosinaktivitäten lagen, wie aus den Tabbl. 6-10 ersichtlich, im Bereich zwischen 0,1344 und 0,4405 U/10⁸ Spermien, die entsprechenden Werte für die linken Nebenhodenhäufchen lagen zwischen 0,1684 und 0,3543 U/10⁸ Spermien.

In der Abbildung 6 sind die Akrosin-Werte für beide Nebenhoden jeden Ebers aufgezeichnet. Diese Form der Darstellung zeigt, auf welcher Nebenhodenseite die höheren Enzymwerte für jeden Eber liegen. Hieraus ist zu ersehen, daß bei 11 Ebern die höheren Spermien-Akrosinaktivitäten in den linken Nebenhodenhäufchen lagen, während dies auf der rechten Seite nur bei 9 Ebern der Fall war.

Die gemessenen Akrosinaktivitäten der Spermien in den rechten Nebenhodenhäufchen bewegten sich zwischen 0,2362 und 0,5277 U/10⁸ Spermien (Tabellen 6-10). Die entsprechenden Werte für die linken Nebenhodenhäufchen lagen zwischen 0,2052 und 0,5295 U/10⁸ Spermien.

In der Abbildung 7 sind die Akrosin-Werte für die Nebenhoden jedes Ebers dargestellt. Hieraus ist zu erkennen, daß bei 12 Ebern die höheren Akrosinaktivitäten in den linken Nebenhodenhäufchen vorlagen und nur in 7 Fällen auf der rechten Seite. Bei einem Eber (Nr.2) waren die Werte für beide Nebenhodenseiten gleich hoch. Bei Spermien aus den rechten Nebenhodenschwänzen wurden Aktivitäten im Bereich von 0,0832 und 0,2822 U/10⁸ Spermien gefunden (Tabellen 6-10). Die entsprechenden Werte für die linken Nebenhodenschwänze lagen zwischen 0,0693 und 0,2837 U/10⁸ Spermien.

In der Abbildung 8 sind für jeden Eber die Akrosin-Werte der rechten und linken Nebenhoden eingezeichnet. Hieraus ist zu erkennen, daß bei 11 Ebern die höheren Akrosin-Werte in den rechten Nebenhodenschwänzen ermittelt wurden, während bei 9 Ebern dieses in den linken Nebenhodenschwänzen der Fall war.

In Abbildung 9 sind die Akrosinaktivitäten von jedem Eber jeweils für Nebenhodenkopf-, Nebenhodenkörper- und Nebenhodenschwanzspermien als Verlauf, nach linken und rechten Nebenhoden getrennt, dargestellt. Aus dieser Abbildung ist ersichtlich, daß mit ganz

wenigen Ausnahmen auf der linken wie auch auf der rechten Seite die Enzymaktivität vom Nebenhodenkopf zum Nebenhodenkörper ansteigt, um zum Nebenhodenschwanz meist unter das Niveau des Nebenhodenkopfes abzufallen.

Aus Tabelle 7 ist zu ersehen, daß die Enzymwerte bei Eber Nr.8 im rechten Nebenhoden vom Nebenhodenkopf ($0,4183 \text{ U}/10^8$ Spermien) über den Nebenhodenkörper ($0,3652 \text{ U}/10^8$ Spermien) zum Nebenhodenschwanz ($0,0832 \text{ U}/10^8$ Spermien) eine Verringerung der Aktivität zeigen, die bei keinem weiteren Eber-Nebenhoden aufgetreten ist. Eber Nr. 3(Tab. 6) zeigt zwar einen Anstieg der Aktivität vom rechten Nebenhodenkopf ($0,2391 \text{ U}/10^8$ Spermien) zum Nebenhodenkörper ($0,3149 \text{ U}/10^8$ Spermien), die Aktivitätsverminderung auf $0,2400 \text{ U}/10^8$ Spermien zum Nebenhodenschwanz liegt aber nicht unter dem Wert des entsprechenden Nebenhodenkopfes. Ebenfalls über den Aktivitätswerten der entsprechenden Nebenhodenköpfe bleiben die Nebenhodenschwanzwerte beider Nebenhoden von Eber Nr. 5, wobei im linken Nebenhoden bei Nebenhodenkörper ($0,2052 \text{ U}/10^8$ Spermien) und Nebenhodenschwanz ($0,2045 \text{ U}/10^8$ Spermien) fast die gleichen Aktivitäten gemessen wurden.

Abbildung 10 zeigt die Aktivitätsspannen und -niveaus (Spanne zwischen niedrigstem und höchstem Enzymwert) für die Akrosin-Werte eines jeden Ebers, nach Nebenhodenseiten getrennt dargestellt. Hieraus ist zu ersehen, daß die Aktivitätsspannen und -niveaus für das Akrosin bei den einzelnen Ebern größere Unterschiede aufweisen als beim Vergleich der einzelnen Nebenhodenseiten eines jeden Ebers untereinander.

Nummer	1		2		3		4	
Rasse	Landrasse		Landrasse		Landrasse		Landrasse	
Alter	3 1/2 Jahre		5 Jahre		2 Jahre		4 1/2 Jahre	
Gewicht	280 kg		270 kg		160 kg		300 kg	
Hoden- gewicht	re.	418,9 g	566,1 g		316,8 g		408,7 g	
	li.	448,8 g	573,4 g		334,1 g		405,2 g	
Nebenhoden- gewicht	re.	111,0 g	142,0 g		129,7 g		116,1 g	
	li.	115,2 g	145,1 g		127,4 g		115,4 g	
Aktivität in U/10 ⁸ Spermien	re.	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li.
Nebenhodenkopf	0,3080	0,2482	0,2419	0,2077	0,2391	0,2887	0,2870	0,3291
Nebenhodenkörper	0,5277	0,4960	0,3134	0,3134	0,3149	0,3129	0,3596	0,4597
Nebenhodenschwanz	0,2121	0,2168	0,1740	0,1703	0,2400	0,1388	0,2822	0,2837

Tab. 6 Akrosinaktivitäten von Nebenhodenspermien bei den Ebern 1-4

Nummer	5		6		7		8	
Rasse	Landrasse		Landrasse		Landrasse		Landrasse	
Alter	6 Jahre		7 Monate		3 1/2 Jahre		1 Jahr	
Gewicht	320 kg		90 kg		350 kg		150 kg	
Hoden- gewicht	re.	546,1 g	218,4 g		573,3 g		210,6 g	
	li.	597,9 g	213,6 g		653,7 g		225,8 g	
Nebenhoden- gewicht	re.	117,5 g	50,1 g		165,1 g		50,2 g	
	li.	133,6 g	49,1 g		185,2 g		48,9 g	
Aktivität in U/10 ⁸ Spermien	re.	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li.
Nebenhodenkopf	0,1344	0,1684	0,3248	0,3499	0,3265	0,2421	0,4183	0,3314
Nebenhodenkörper	0,2322	0,2052	0,3964	0,4660	0,4260	0,5295	0,3652	0,4231
Nebenhodenschwanz	0,1989	0,2045	0,0955	0,1479	0,1830	0,0693	0,0832	0,0704

Tab. 7 Akrosinaktivitäten von Nebenhodenspermien bei den Ebern 5-8

Nummer	9		10		11		12	
Rasse	Landrasse		Landrasse		Landrasse		Landrasse	
Alter	6 Monate		3 Jahre		7 Monate		1 Jahr	
Gewicht	90 kg		240 kg		90 kg		140 kg	
Hoden- gewicht	re. li.	161,2 g 170,7 g	re. li.	453,7 g 478,0 g	re. li.	187,4 g 190,1 g	re. li.	256,1 g 270,5 g
Nebenhoden- gewicht	re. li.	42,2 g 43,4 g	re. li.	127,3 g 129,1 g	re. li.	44,7 g 44,1 g	re. li.	62,4 g 66,5 g
Aktivität in U/10 ⁸ Spermien	re.	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li.
Nebenhodenkopf	0,4405	0,3351	0,2543	0,2257	0,3341	0,3516	0,2296	0,2476
Nebenhodenkörper	0,4961	0,3824	0,3075	0,3175	0,3975	0,4017	0,3125	0,3654
Nebenhodenschwanz	0,2114	0,2477	0,2012	0,1864	0,2271	0,1993	0,1103	0,1586

Tab. 8 Akrosinaktivitäten von Nebenhodenspermien bei den Ebern 9 - 12

Nummer	13		14		15		16	
Rasse	Landrasse		Landrasse		Landrasse		Landrasse	
Alter	7 Monate		3 Jahre		3 Jahre		4 1/2 Jahre	
Gewicht	90 kg		290 kg		240 kg		280 kg	
Hoden- gewicht	re. li.	197,4 g 201,2 g	re. li.	628,1 g 626,4 g	re. li.	386,5 g 436,1 g	re. li.	552,1 g 535,3 g
Nebenhoden- gewicht	re. li.	47,2 g 49,1 g	re. li.	148,1 g 152,3 g	re. li.	106,5 g 117,3 g	re. li.	141,3 g 132,1 g
Aktivität in U/10 ⁸ Spermien	re.	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li.
Nebenhodenkopf	0,3072	0,3543	0,2944	0,1826	0,3197	0,3341	0,2793	0,2991
Nebenhodenkörper	0,3861	0,3971	0,3135	0,2376	0,3922	0,3874	0,3761	0,4024
Nebenhodenschwanz	0,1774	0,1146	0,1388	0,1522	0,1471	0,1582	0,1832	0,1378

Tab. 9 Akrosinaktivitäten von Nebenhodenspermien bei den Ebern 13 - 16

Nummer	17		18		19		20	
Rasse	Landrasse		Landrasse		Landrasse		Landrasse	
Alter	3 Jahre		5 Jahre		2 1/2 Jahre		3 Jahre	
Gewicht	260 kg		280 kg		170 kg		190 kg	
Hoden- gewicht	re.	462,3 g	521,3 g		276,3 g		301,7 g	
	li.	487,9 g	562,1 g		284,5 g		327,2 g	
Nebenhoden- gewicht	re.	119,3 g	138,4 g		98,3 g		110,4 g	
	li.	130,4 g	151,3 g		103,5 g		112,3 g	
Aktivität in U/10 ⁸ Spermien	re.	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li.
Nebenhodenkopf	0,2563	0,2415	0,2993	0,2572	0,2564	0,2786	0,3246	0,3471
Nebenhodenkörper	0,3612	0,3147	0,3815	0,3884	0,3172	0,3763	0,4021	0,4262
Nebenhodenschwanz	0,1763	0,1556	0,1572	0,1731	0,1721	0,1525	0,1872	0,1757

Tab. 10 Akrosinaktivitäten von Nebenhodenspermien bei den Ebern 17 - 20

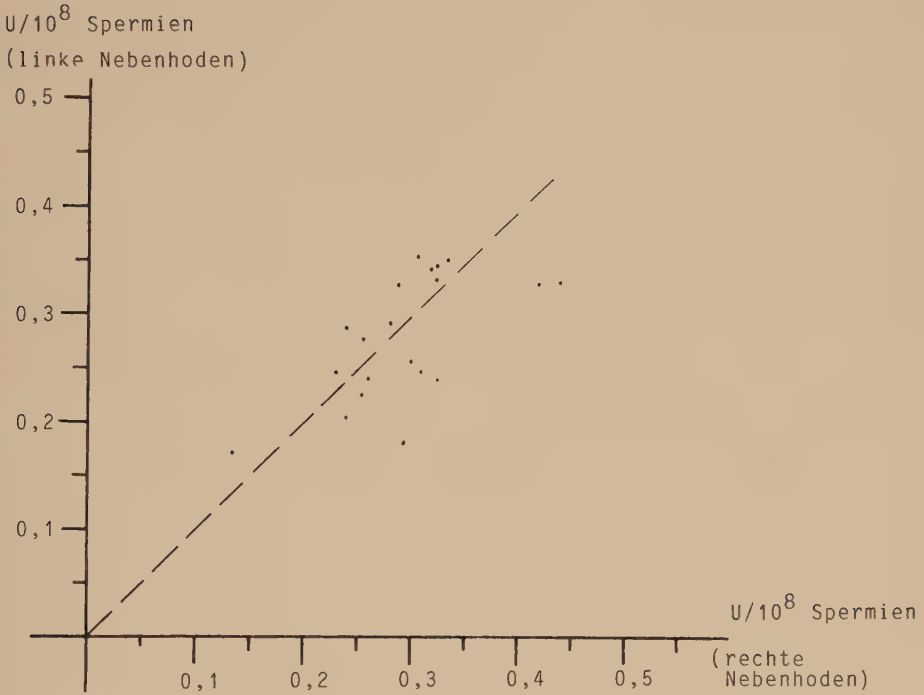


Abb. 6 Akrosinaktivitäten von Spermien aus den
linken und rechten Nebenhodenköpfen
von 20 Ebern

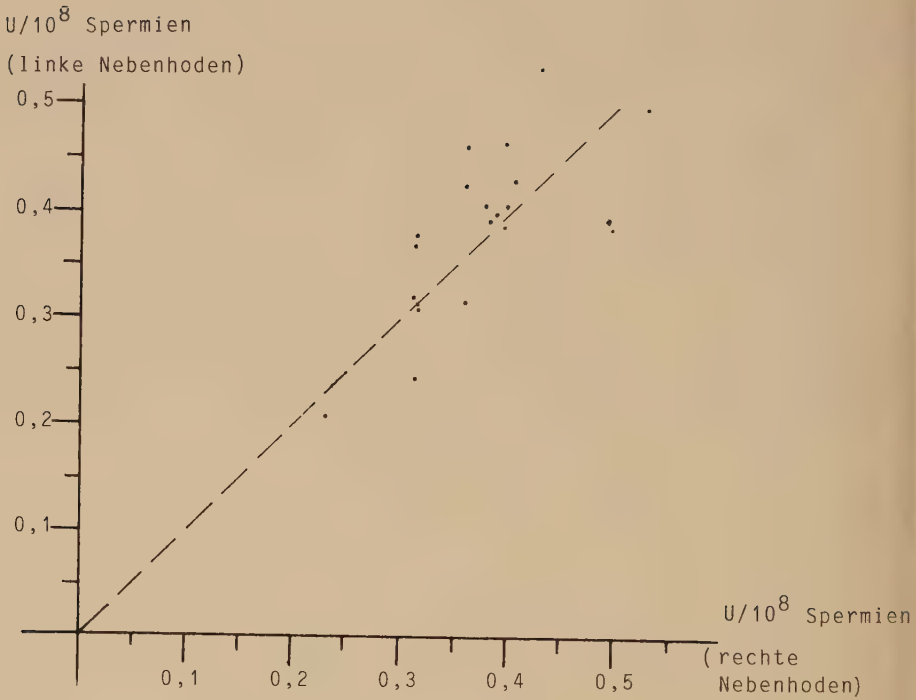


Abb. 7 Akrosinaktivitäten von Spermien aus den linken und rechten Nebenhodenkörpern von 20 Ebern

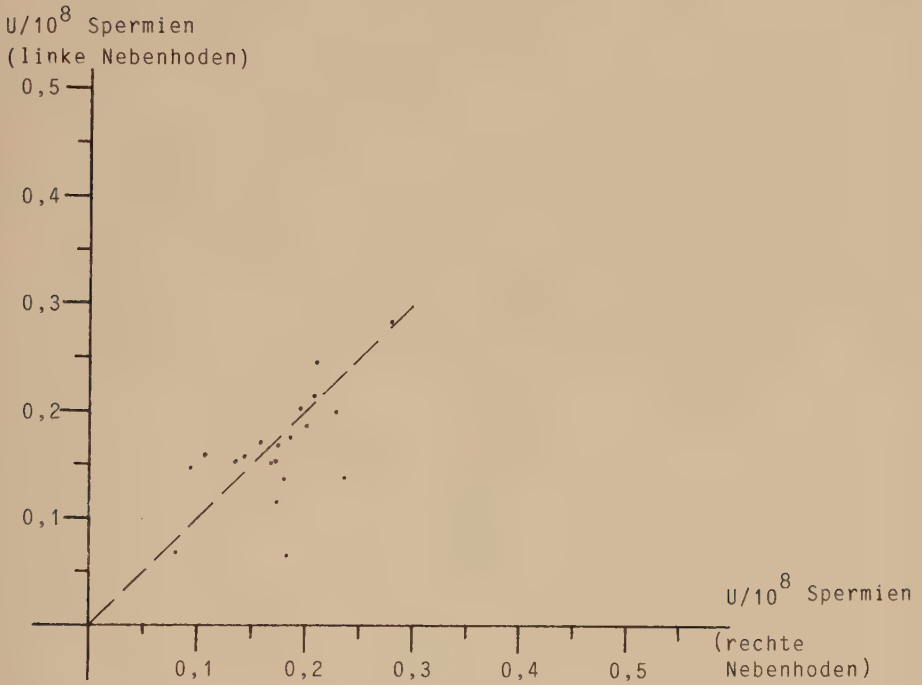


Abb. 8 Akrosinaktivitäten von Spermien aus den
linken und rechten Nebenhodenschwänzen
von 20 Ebern

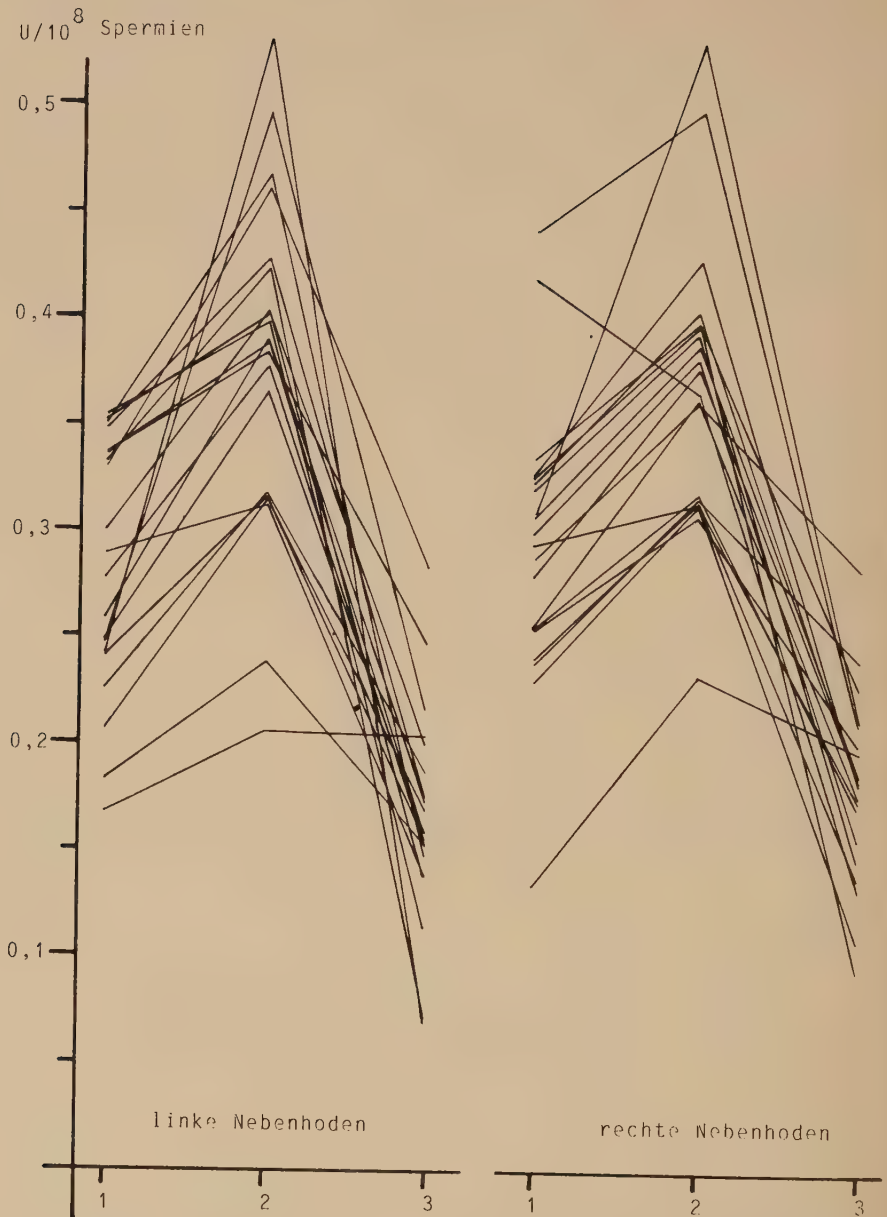


Abb. 9 Aktivitäten des Akrosins im Verlauf der Nebenhodenzugabe bei Ebern.
(n = 20)
1=Nebenhodenkopf
2=Nebenhodenkörper
3=Nebenhodenschwanz

U/10⁸ Spermien

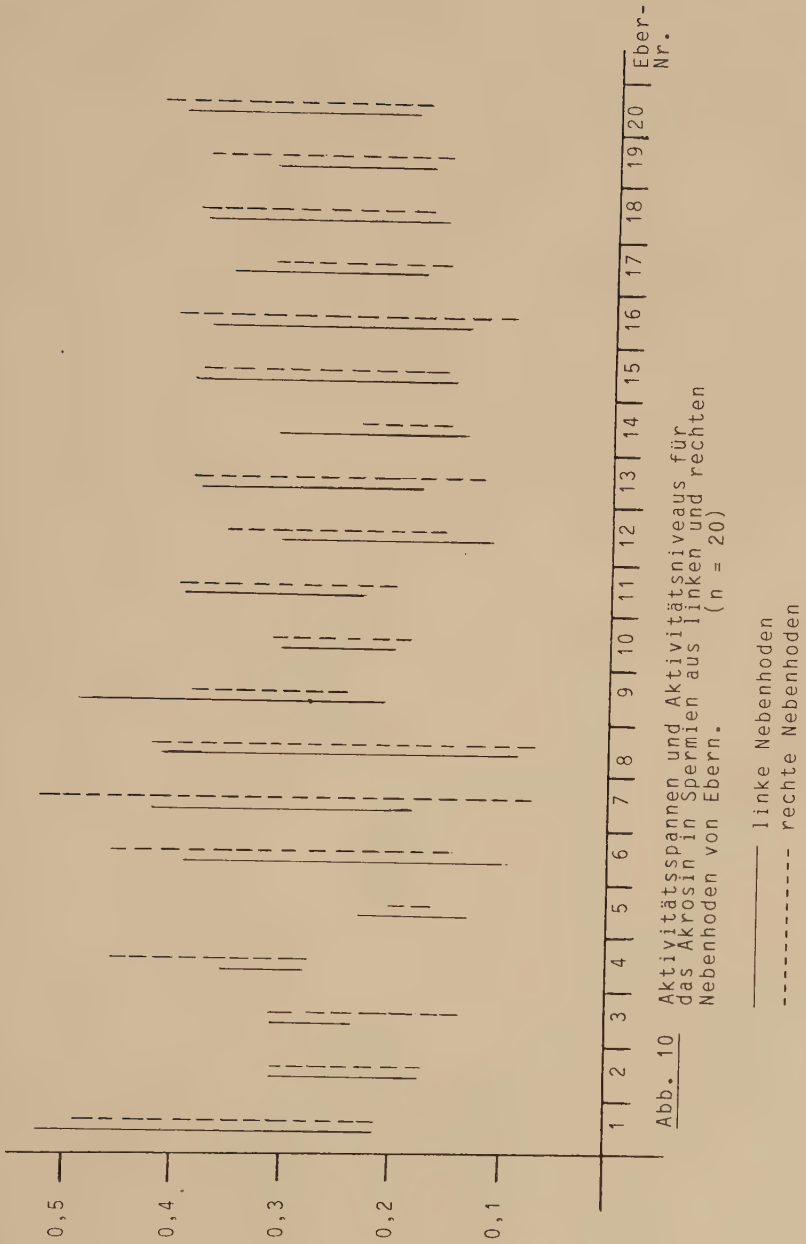


Abb. 10 Aktivitätsspannen und Aktivitätsniveaus für das Akrosin in Spermien aus linken und rechten Nebenhoden von Ebern. (n = 20)

— linke Nebenhoden
 - - - rechte Nebenhoden

3.2.3 Ergebnisse: Schafbockspermien

Die gemessenen Akrosinaktivitäten von Spermien aus den rechten Nebenhodenköpfen bewegten sich, wie aus den Tabellen 11 - 15 ersichtlich, bei Werten zwischen 0,0949 und 0,2426 U/10⁸ Spermien. Die entsprechenden Werte für die linken Nebenhodenköpfe lagen zwischen 0,0746 und 0,2104 U/10⁸ Spermien.

In der Abbildung 11 sind die Akrosin-Werte für beide Nebenhoden jedes Schafbockes aufgezeichnet. Diese Form der Darstellung ermöglicht zu erkennen, auf welcher Nebenhodenseite die höheren Enzymwerte für jeden Schafbock liegen. Hieraus ist zu erkennen, daß bei 16 Schafböcken die höheren Akrosinaktivitäten in den rechten Nebenhodenköpfen lagen, während dies auf der linken Seite nur bei 4 Schafböcken der Fall war.

Die gemessenen Akrosinaktivitäten der Spermien in den rechten Nebenhodenkörpern bewegten sich zwischen 0,1006 und 0,2897 U/10⁸ Spermien. Die entsprechenden Werte für die linken Nebenhodenkörper lagen zwischen 0,0845 und 0,3127 U/10⁸ Spermien (Tabellen 11 - 15).

In der Abbildung 12 sind die Akrosin-Werte jedes Schafbockes für beide Nebenhoden dargestellt. Hieraus ist zu erkennen, daß bei 13 Schafböcken die höheren Akrosinaktivitäten in den linken Nebenhodenkörpern vorlagen und nur in 7 Fällen auf der rechten Seite. Bei Spermien aus den rechten Nebenhodenschwänzen bewegten sich die gemessenen Akrosinaktivitäten zwischen 0,0116 und 0,1503 U/10⁸ Spermien. Die entsprechenden Werte für die linken Nebenhodenschwänze lagen zwischen 0,0133 und 0,0772 U/10⁸ Spermien (Tabellen 11 - 15).

In der Abbildung 13 sind für jeden Schafbock die Akrosin-Werte der rechten und linken Nebenhoden eingezeichnet. Daraus geht hervor, daß bei 11 Schafböcken die höheren Akrosin-Werte in den linken Nebenhodenschwänzen ermittelt wurden, während bei 9 Schafböcken dieses in den rechten Nebenhodenschwänzen der Fall war.

In der Abbildung 14 sind die Akrosinaktivitäten jedes Schafbockes jeweils für Nebenhodenkopf-, Nebenhodenkörper- und Nebenhodenschwanzspermien als Verlauf, nach linken und rechten Nebenhoden getrennt, dargestellt. Hieraus ist zu erkennen, daß, mit einigen Ausnahmen besonders bei rechten Nebenhoden, auf der linken wie auch auf der rechten Seite die Enzymaktivität vom Nebenhodenkopf

zum Nebenhodenkörper ansteigt, um zum Nebenhodenschwanz immer unter das Niveau des Nebenhodenkopfes abzufallen.

Wie aus den Enzymwerten der Tabellen 11-15 zu ersehen ist, ist bei 9 rechten Nebenhoden (Schafböcke Nr. 2,3,4,6,10,15,16,18 u. 20) kein Aktivitätsanstieg vom Nebenhodenkopf zum Nebenhodenkörper zu verzeichnen. Für linke Nebenhoden ist dieses bei 4 Schafböcken (Nr.3,6,9 u. 15) erkennbar.

In der Abbildung 15 sind die Aktivitätsspannen und -niveaus (Spanne zwischen niedrigstem und höchstem Enzymwert) für die Akrosin-Werte eines jeden Schafbockes nach Nebenhodenseiten getrennt dargestellt. Hieraus ist zu ersehen, daß die Aktivitätsspannen und -niveaus für das Akrosin bei den einzelnen Schafböcken größere Unterschiede aufweisen als beim Vergleich der einzelnen Nebenhodenseiten eines jeden Schafbockes untereinander.

Nummer	1		2		3		4	
Rasse	Schwarzkopf		Schwarzkopf		Schwarzkopf		Schwarzkopf	
Alter	1 Jahr		2 1/2 Jahre		2 1/2 Jahre		2 1/2 Jahre	
Gewicht	40 kg		80 kg		80 kg		90 kg	
Hodengewicht	re.	75,5 g	184,2 g		170,3 g		251,7 g	
	li.	78,0 g	179,0 g		181,2 g		256,3 g	
Nebenhodengewicht	re.	17,5 g	34,7 g		38,4 g		42,0 g	
	li.	17,4 g	32,5 g		39,5 g		42,1 g	
Aktivität in $11/10^8$ Spermien	re.	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li.
Nebenhodenkopf	0,0986	0,1350	0,1737	0,1593	0,2119	0,1500	0,1287	0,0940
Nebenhodenkörper	0,1006	0,1632	0,1262	0,1673	0,1150	0,0845	0,1136	0,1442
Nebenhodenschwanz	0,0570	0,0213	0,0179	0,0201	0,0302	0,0133	0,0116	0,0197

Tab. 11 Akrosinaktivitäten von Nebenhodenspermien bei den Schafböcken 1 - 4

Nummer	5		6		7		8	
Rasse	Schwarzkopf		Schwarzkopf		Schwarzkopf		Schwarzkopf	
Alter	3 Jahre		2 Jahre		2 1/2 Jahre		2 1/2 Jahre	
Gewicht	50 kg		100 kg		75 kg		65 kg	
Hoden- gewicht	re.	113,9 g	267,2 g		126,3 g		118,2 g	
	li.	121,9 g	250,8 g		124,1 g		118,5 g	
Nebenhoden- gewicht	re.	22,7 g	50,6 g		28,2 g		32,3 g	
	li.	23,8 g	52,0 g		27,5 g		35,1 g	
Aktivität in U/10 ⁸ Spermien	re.	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li.
Nebenhodenkopf	0,1107	0,1265	0,2426	0,2104	0,2301	0,1535	0,1962	0,1755
Nebenhodenkörper	0,1205	0,1485	0,1661	0,1840	0,2897	0,3127	0,2146	0,2216
Nebenhodenschwanz	0,0352	0,0583	0,0623	0,0601	0,0511	0,0547	0,0287	0,0361

Tab. 12 Akrosinaktivitäten von Nebenhodenspermien bei den Schafböcken 5 - 8

Nummer	9		10		11		12	
Rasse	Schwarzkopf		Schwarzkopf		Schwarzkopf		Schwarzkopf	
Alter	2 Jahre		3 Jahre		3 Jahre		2 Jahre	
Gewicht	70 kg		85 kg		75 kg		65 kg	
Hoden- gewicht	re.	132,4 g	183,6 g		149,7 g		112,4 g	
	li.	135,1 g	187,4 g		152,6 g		118,3 g	
Nebenhoden- gewicht	re.	27,6 g	39,6 g		33,6 g		29,6 g	
	li.	29,1 g	40,1 g		31,9 g		31,4 g	
Aktivität in U/10 ⁸ Spermien	re.	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li.
Nebenhodenkopf	0,1625	0,1416	0,2176	0,1873	0,1741	0,1468	0,1799	0,1463
Nebenhodenkörper	0,1726	0,1358	0,1893	0,1965	0,2056	0,1787	0,2423	0,2006
Nebenhodenschwanz	0,0296	0,0205	0,0376	0,0418	0,0239	0,0367	0,0556	0,0473

Tab. 13 Akrosinaktivitäten von Nebenhodenspermien bei den Schafböcken 9 - 12

Nummer	13		14		15		16	
Rasse	Schwarzkopf		Schwarzkopf		Schwarzkopf		Schwarzkopf	
Alter	1 1/2 Jahre		2 Jahre		2 Jahre		1 1/2 Jahre	
Gewicht	60 kg		70 kg		65 kg		45 kg	
Hoden re.	65,2 g		97,8 g		122,1 g		124,2 g	
gewicht li.	65,6 g		130,0 g		122,5 g		116,3 g	
Nebenhoden- re.	17,1 g		28,9 g		22,9 g		25,0 g	
gewicht li.	17,2 g		28,0 g		24,0 g		24,2 g	
Aktivität in U/10 ⁸ Spermien	re.	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li.
Nebenhodenkopf	0,0949	0,1185	0,1620	0,1183	0,2112	0,1793	0,1362	0,0746
Nebenhodenkörper	0,1036	0,1727	0,2043	0,1770	0,1845	0,1624	0,1045	0,0852
Nebenhodenschwanz	0,0816	0,0544	0,1503	0,0570	0,0763	0,0668	0,0408	0,0613

Tab. 14 Akrosinaktivitäten von Nebenhodenspermien bei den Schafböcken 13 - 16

Nummer	17		18		19		20	
Rasse	Schwarzkopf		Schwarzkopf		Schwarzkopf		Schwarzkopf	
Alter	2 Jahre		2 Jahre		2 Jahre		1 Jahr	
Gewicht	50 kg		45 kg		50 kg		58 kg	
Hoden - re.	72,2 g		102,0 g		99,1 g		114,9 g	
gewicht li.	75,4 g		104,1 g		102,08 g		125,3 g	
Nebenhoden- re.	18,9 g		20,0 g		17,3 g		29,5 g	
gewicht li.	19,8 g		20,3 g		17,0 g		32,1 g	
Aktivität in U/10 ⁸ Spermien	re.	li.	re.	li.	re.	li.	re.	li.
Nebenhodenkopf	0,1211	0,1003	0,1283	0,1086	0,1563	0,1325	0,1126	0,1498
Nebenhodenkörper	0,1500	0,1762	0,1147	0,1572	0,1687	0,1712	0,1085	0,1723
Nebenhodenschwanz	0,0452	0,0593	0,0561	0,0691	0,0772	0,0541	0,0412	0,0626

Tab. 15 Akrosinaktivitäten von Nebenhodenspermien bei den Schafböcken 17 - 20

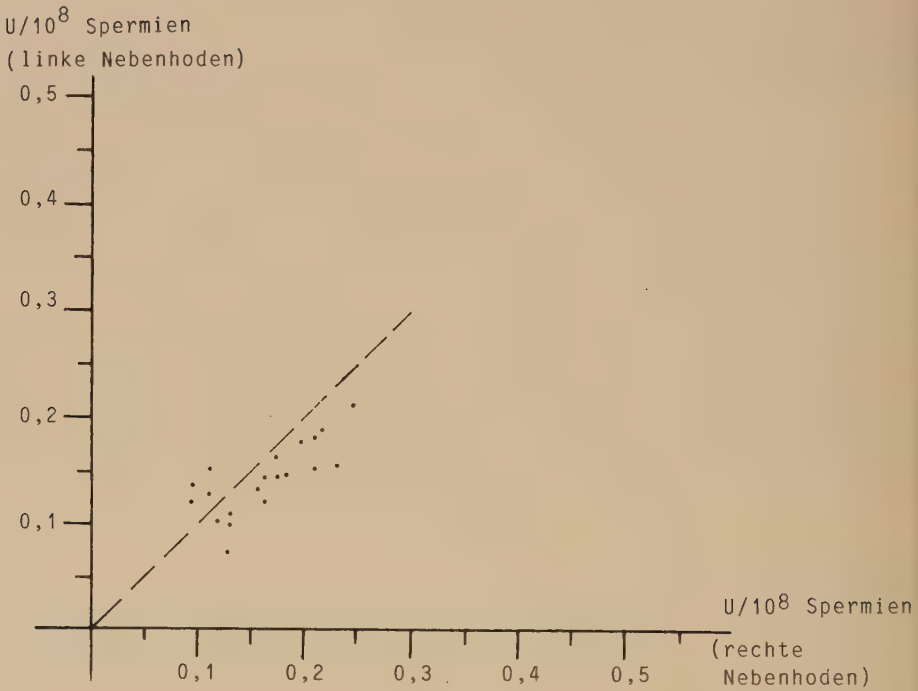


Abb. 11 Akrosinaktivitäten von Spermien aus den
linken und rechten Nebenhodenköpfen
von 20 Schafböcken

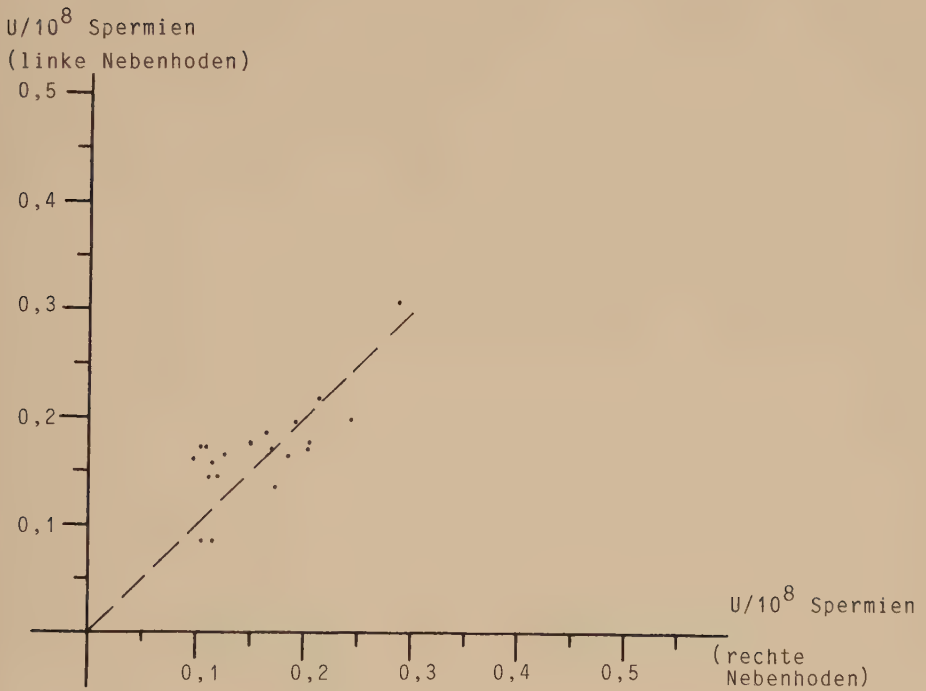


Abb. 12 Akrosinaktivitäten von Spermien aus den linken und rechten Nebenhodenkörpern von 20 Schafböcken

$U/10^8$ Spermien
(linke Nebenhoden)

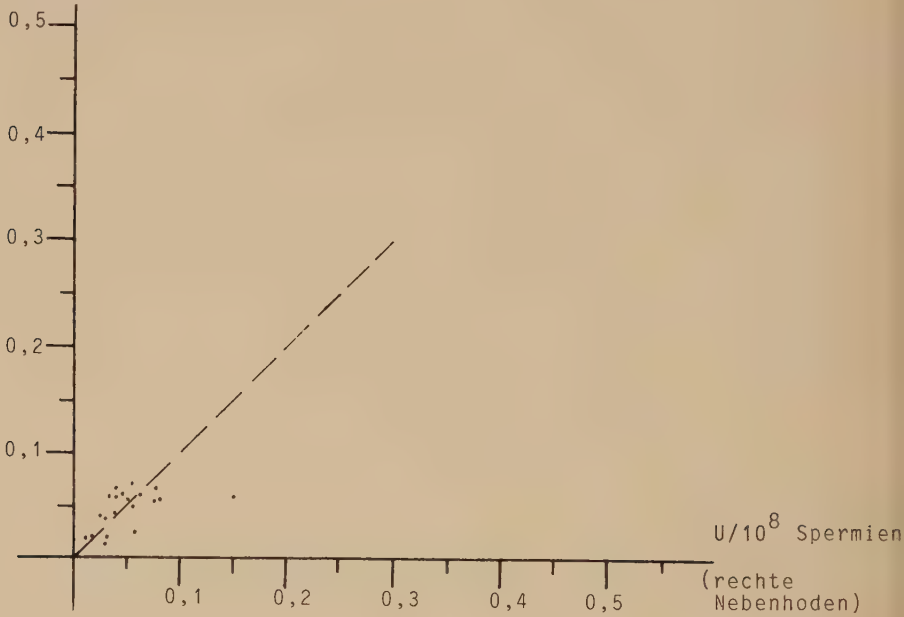


Abb. 13 Akrosinaktivitäten von Spermien aus den
linken und rechten Nebenhodenschwänzen
von 20 Schafböcken

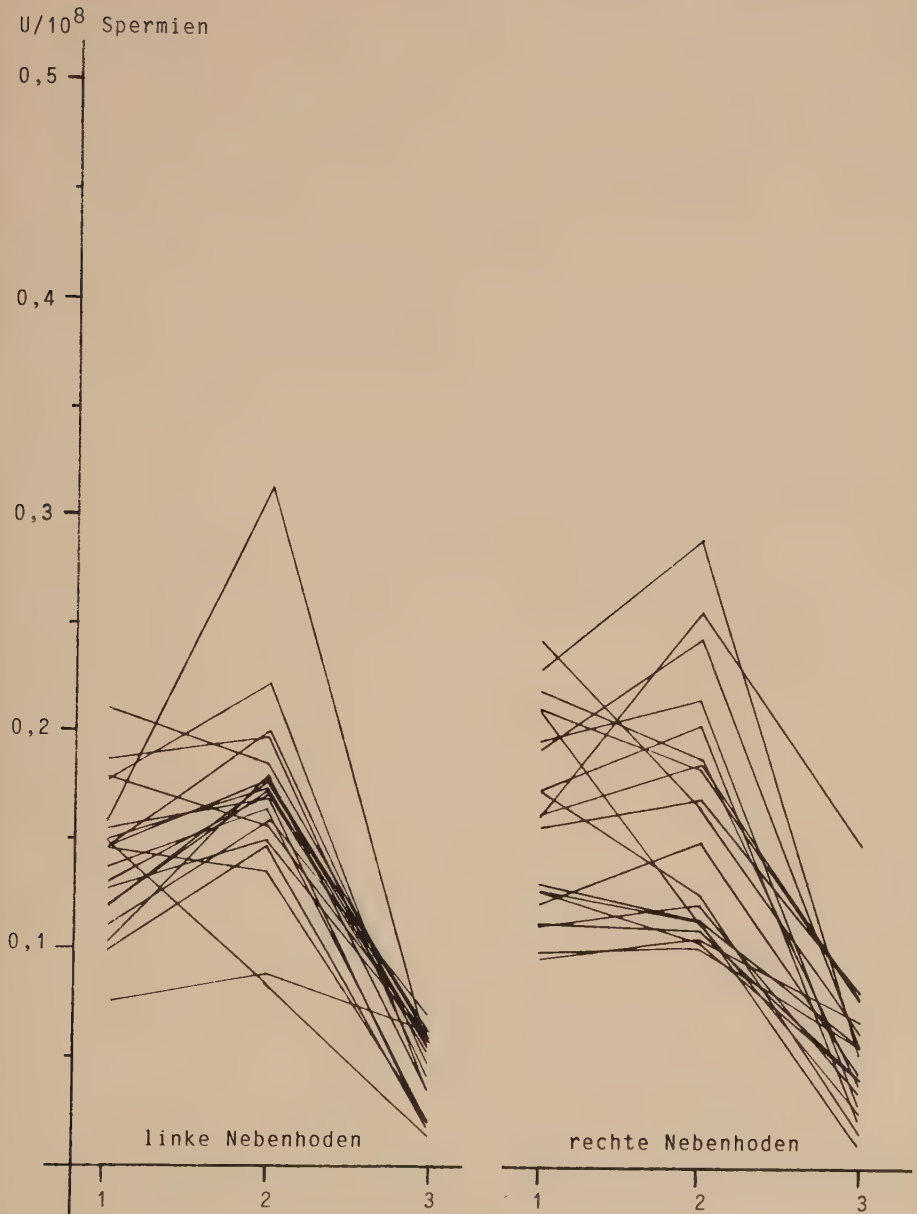
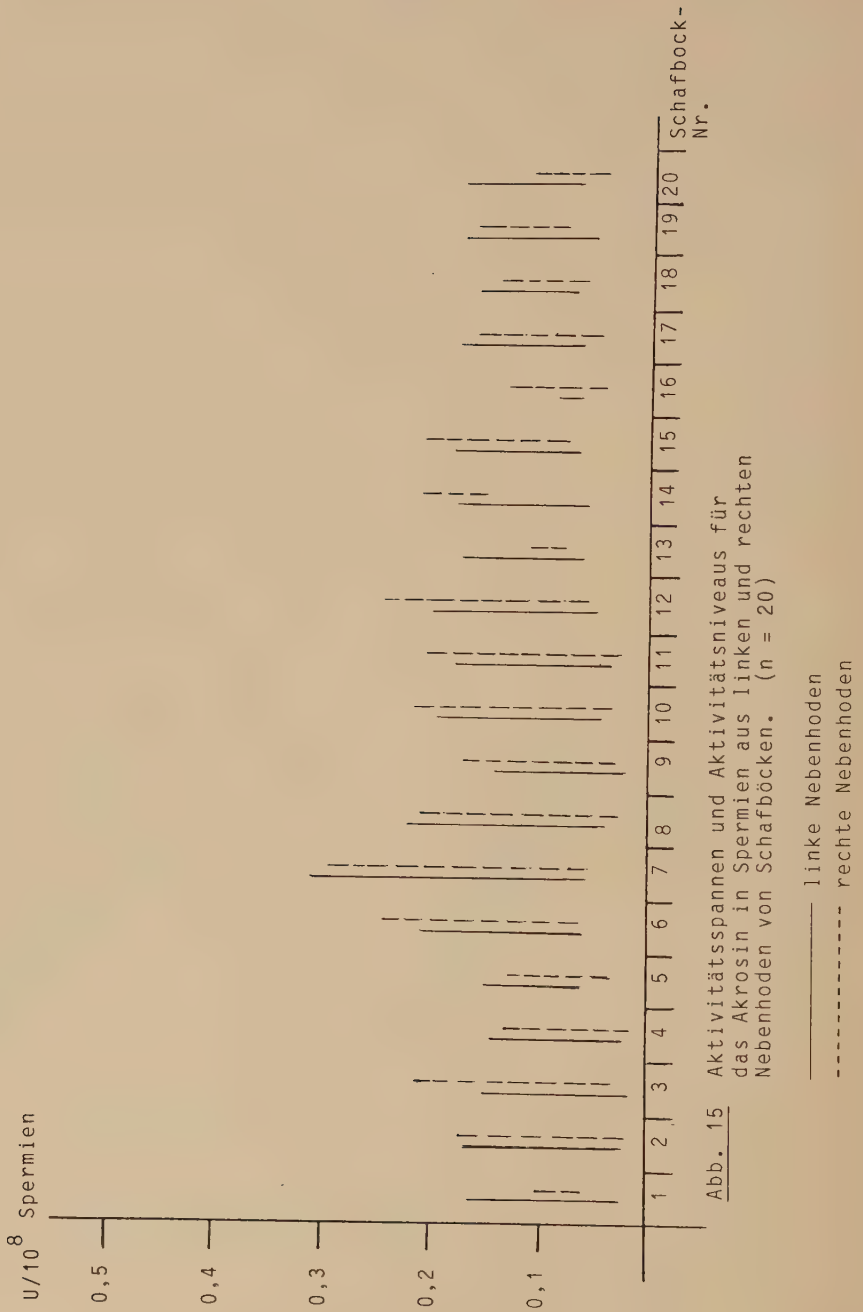


Abb. 14 Aktivitäten des Akrosins im Verlauf der Nebenhodenpassage bei Schafböcken. (n = 20)

1=Nebenhodenkopf
2=Nebenhodenkörper
3=Nebenhodenschwanz



4. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die bisher vorliegenden Ergebnisse über Akrosinaktivitäten beruhen vorwiegend auf Untersuchungen, die mit Ejakulat-Spermien verschiedener Spezies durchgeführt wurden (WALDSCHMIDT u. Mitarb., 1966; ALLISON u. HARTREE, 1970; HO u. MEIZEL, 1970; FINK u. Mitarb., 1972; FRITZ u. Mitarb., 1972a; PEDERSEN, 1972; ZIMMERMANN u. BURCK, 1978).

Da die bisherigen Untersuchungen hauptsächlich der physiologisch-funktionellen Bedeutung des Akrosin galten und die Enzymaktivitätsverhältnisse in Nebenhodenkopf- und Nebenhodenkörperspermien unberücksichtigt blieben, ist ein direkter Vergleich der eigenen Untersuchungsergebnisse mit den in der vorliegenden Literatur gemachten Angaben nicht möglich. Einige Autoren (YAMANE, 1935a,b; ZANEVELD u. Mitarb., 1969; ZANEVELD u. Mitarb., 1973b; BROWN u. HARRISON, 1978; HARRISON u. BROWN, 1979) arbeiteten bei ihren Untersuchungen mit Nebenhodenspermien, die aber ohne Ausnahme aus den Nebenhodenschwänzen stammten. Einziger Anhaltspunkt bleibt die Arbeit von HARRISON und BROWN (1979), bei der für Nebenhodenschwanzspermien Akrosinaktivitäten bestimmt wurden, die doppelt so groß waren, wie von Spermien aus dem Hoden des gleichen Tieres.

Bei Betrachtung der eigenen Untersuchungsergebnisse wurde ein Anstieg der Enzymaktivitäten vom Nebenhodenkopf zum Nebenhodenkörper festgestellt, dagegen waren die Akrosinaktivitäten von Nebenhodenschwanzspermien deutlich niedriger als die der Nebenhodenkörperspermien, meist sogar auch niedriger als bei Nebenhodenkopfspermien. Diese Aktivitätsverminderung bei Nebenhodenschwanzspermien wurde bei allen 3 untersuchten Tierarten ermittelt. Tierartliche Unterschiede zeigten sich allerdings bei der Betrachtung der Aktivitätswerte aus Nebenhodenkopf und Nebenhodenkörper. Während bei Bullen und Ebern die Spermien einen starken Akrosinaktivitäts-Anstieg zum Nebenhodenkörper hin aufwiesen, war dieser bei den Schafböcken geringer. Aus Abbildung 16 ist zu ersehen, daß bei einer vergleichenden Betrachtung der Akrosinaktivitäten der 3 Tierarten untereinander die höchsten

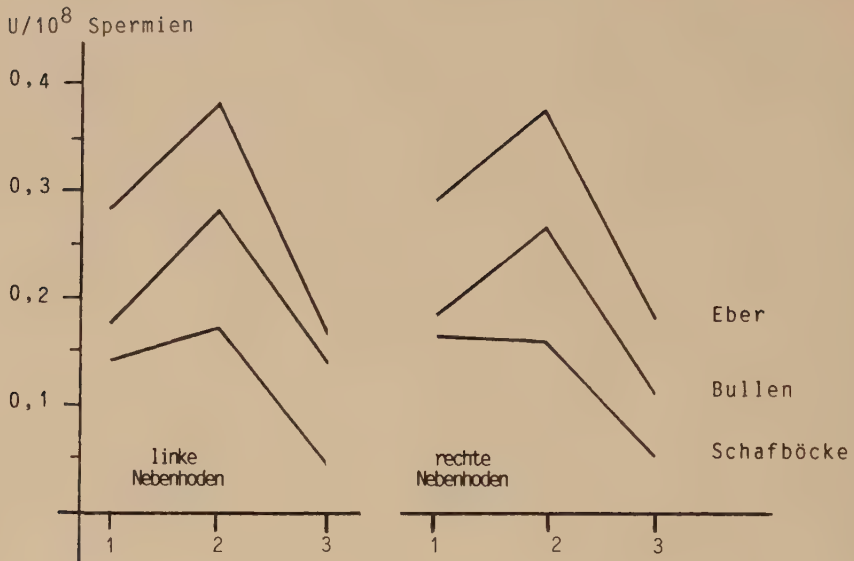


Abb. 16 Akrosinaktivitätsverlauf in linken und rechten Nebenhoden von Bullen, Ebern und Schafböcken.
Mittelwerte aus n = 20 pro Tierart

Enzymwerte bei den Spermien der Eber beobachtet wurden, während die Akrosin-Werte für die Schafböcke am niedrigsten und die der Bullen zwischen den Ergebnissen der Eber und Böcke lagen. Dies galt für sämtliche Nebenhodenabschnitte.

Die Gründe für die bei allen 3 untersuchten Tierarten aufgetretenen niedrigen Akrosinaktivitäten im Nebenhodenschwanz können nur vermutet werden. Hier läßt sich der stark herabgesetzte Spermienstoffwechsel im Verlauf der Anabiose als Ursache vorstellen, da hierbei im Nebenhodenschwanz starke Milieu-Veränderungen auftreten, die durch Verringerung von Elektrolyten, Absinken des pH-Wertes wie auch des Sauerstoffangebotes sowie durch eine Temperatursenkung um 2-3°C entstehen. Parallel zur Verringerung des Spermienstoffwechsels ist eine Beeinflussung des Enzymstoffwechsels denkbar. In diesem Zusammenhang müssen wohl auch die Untersuchungsergebnisse von HARRISON und BROWN (1979) gesehen werden, bei denen in Nebenhodenschwanzspermien niedrigere Akrosin-Inhibitoraktivitäten gemessen wurden als in Hoden- und Ejakulatspermien. Die Akrosinaktivitätsmessungen bei Ejakulatspermien von Bullen (WENDT, 1974) und Ebern (FINK u. Mitarb., 1972) zeigten Ergebnisse, die etwa im Bereich der ermittelten Werte von Nebenhodenkörperspermien der eigenen Untersuchungen lagen. Daraus wird ersichtlich, daß Akrosin in Nebenhodenschwanzspermien ein niedrigeres Aktivitätsniveau aufweist als in Ejakulatspermien. Die Aktivierung des Enzyms im Ejakulat könnte wiederum parallel zur Aktivierung des Spermienstoffwechsels ablaufen, wobei dem Seminalplasma wahrscheinlich die größere Bedeutung zuzuschreiben wäre, wofür auch der von BROWN und HARTREE (1976) im Seminalplasma gefundene Akrosinaktivator spricht. Diese Autoren konnten feststellen, daß Spermien nach Zugabe dieses Aktivators erheblich höhere Akrosinaktivitäten aufweisen.

Es bleibt offen, ob die quantitative Bestimmung der Akrosinaktivität von Spermien als alleiniges Kriterium zur Beurteilung der Befruchtungsfähigkeit herangezogen werden kann, es steht jedoch

fest, daß dieses Kopfkappenenzym für den Befruchtungsvorgang von essentieller Bedeutung ist. Diese Tatsache läßt den Schluß zu, daß aus dem Nebenhodenkopf und dem Nebenhodenkörper gewonnene Spermien aufgrund des vorhandenen Akrosins ebenso befruchtungsfähig sein müssen wie Nebenhodenschwanzspermien, zumal die Enzymaktivitäten von Nebenhodenkopf- und Nebenhodenkörperspermien bei allen 3 untersuchten Spezies höher lagen als bei Nebhodenschwanzspermien. Diese Annahme wird bestätigt durch experimentelle Arbeiten mit Kaninchenspermien (BEDFORD, 1967) sowie mit durch alloplastischer Spermatozele gewonnenen Nebenhodenkopf- und -körperspermien von Minipig-Ebern (KELÄMI u. Mitarb., 1977).

Die Untersuchungen zeigten, daß altersabhängige Unterschiede in den Akrosinaktivitäten der einzelnen Tierspezies nicht vorhanden sind, allerdings muß mit erheblichen individuellen Schwankungen bei den einzelnen Tieren einer Spezies gerechnet werden, ohne daß sich dadurch jedoch die Relationen zwischen den Nebenhodenabschnitten ändern.

5. ZUSAMMENFASSUNG

An Nebenhodenspermien aus den einzelnen Abschnitten des Nebenhodenkanals wurden Untersuchungen über die Aktivität des Penetrationsenzym Akrosin durchgeführt. Um tierartspezifische Eigenarten auszuschließen, wurden Spermien von je 20 Bullen, 20 Ebern und 20 Schafböcken untersucht. Die Gewinnung des Enzyms erfolgte durch Extraktion mit 2%iger Essigsäure, worauf sich die photometrische Auswertung mit Hilfe des empfindlichen BAEE/ADH Testsystems anschloß.

Die höchsten Akrosin-Werte wurden bei Ebernebenhodenspermien gemessen, bei Schafbockspermien lagen die Enzym-Aktivitäten am niedrigsten und die der Bullenspermien zwischen denen von Ebern und Schafböcken.

Bei Bullen und Ebern zeigte sich ein meist starker Aktivitätsanstieg von Nebenhodenkopf- zu Nebenhodenkörperspermien. Dieser Verlauf trat bei Schafbockspermien nicht so deutlich hervor. Bei allen drei Tierarten wurden die niedrigsten Enzymwerte in Nebenhodenschwanzspermien ermittelt. Ob hier im Rahmen der Anabiose wie bei der Verminderung des Spermienstoffwechsels ein zu diesem parallel verlaufender Prozeß stattfindet, kann vermutet werden. Aufgrund der ermittelten Akrosin-Aktivitäten in Nebenhodenkopfspermien bestehen gegen den Einsatz von Spermien aus diesen proximalen Nebenhodenabschnitten zur künstlichen Besamung keine Bedenken, was auch durch die erfolgreichen Versuche von BEDFORD (1967) sowie KELÂMI und Mitarbeitern (1977) bestätigt wurde.

6. SUMMARY

The activity of the penetration enzyme acrosin of sperm cells from the different epididymis sections were investigated. To eliminate species specific individualities sperms from 20 bulls, 20 boars and 20 rams were analysed. The enzyme was extracted by 2% acetic acid. The photometrical determination was carried out with the BAEE/ADH test system.

Highest levels of acrosin activity were found in boar sperms followed by sperm cells of the bull; ram sperms had the lowest concentrations. Bull and boar sperms showed an increase of acrosin activity in the corpus compared to the caput, while ram sperms had less activity variations. Lowest acrosin activities were found in the cauda epididymis in all species.

Analogue process to the metabolism depression of sperm in ana-biose can be suspected.

According to the acrosin activity of the sperms in the caput epididymis there is no objection to using sperms from the upper epididymis sections for artificial insemination. This opinion can be confirmed by the successful findings of BEDFORD (1967) and KELÂMI et al. (1977).

7. LITERATURVERZEICHNIS

- ALLISON, A. (1967) Lysosomes and disease.
Scientific American 217,
62-72
- ALLISON, A. u. E.F.
HARTREE (1970) Lysosomal enzymes in the acrosome
and their possible role in fertili-
zation.
J. Reprod. Fert. 21, 501-515
- AUSTIN, C.R. u. M.W.H.
BISHOP (1958) Role of the rodent acrosome and per-
foratorium in fertilization.
Proc. R. Soc. Lond. Biol. 149,
241-248
- AUSTIN, C.R. (1967) Capacitation of spermatozoa.
Int. J. Fert. 12, 25-31
- AUSTIN, C.A. (1969) Sperm-capacitation - biological
significance in various species.
in: Advances in the biosciences,
4, 1-11
Schering Symposium 1969, Pergamon Press
- BAMBERG, E. (1975) Biochemische Aspekte der Spermien-
reifung im Nebenhoden.
Int. Fachtagung d. Bundesanstalt f.
künstl. Besamung d. Haustiere
2. - 4.10.1975, WELS
- BARGMANN, W. (1964) Histologie und mikroskopische Anatomie
des Menschen.
Georg Thieme Verlag, 5. Auflage
- BAVISTER, B.D. u. R.
YANAGIMACHI (1977) The effects of sperm extracts and energy
sources on the motility and acrosome
reaction of hamster spermatozoa in
vitro.
Biol. Reprod. 16, 228-237

- BAVISTER, B.D., B.J.
ROGERS u. R. YANAGIMACHI
(1978)
The effects of cauda epididymal plasma on the motility and acrosome reaction of hamster and guinea pig spermatozoa in vitro.
Biol. Reprod. 19, 358-363
- BHATTACHARYYA, A.K. u.
L.J.D. ZANEVELD (1982)
The sperm head.
in: Biochemistry of mammalian reproduction.
ZANEVELD, L.J.D. u. R.T. CHATTERTON (Eds).
Verlag J. Wiley u. Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto.
- BEDFORD, J.M. (1967)
Effects of duct ligation on the fertilizing ability of spermatozoa from different regions of the rabbit epididymis.
J. Exptl. Zool. 166, 271-282
- BEDFORD, J.M. (1969)
Morphological aspects of sperm capacitation in mammals.
in: Advances in the bioscience. 4, 35-50
Schering Symposium 1969, Pergamon Press
- BEDFORD, J.M. (1970)
Sperm capacitation and fertilization in mammals.
Biol. Reprod. (Suppl. 2), 128-158
- BRADFORD, M.M., R.A.
McRORIE u. W.L.
WILLIAMS (1976)
Involvement of esterases in sperm penetration of the corona radiata of the ovum.
Biol. Reprod. 15, 102-106

- BROOKS, D.E. (1977) The androgenic control of glycolytic enzymes in the epididymis determined by efferent duct ligation or castration. J. Reprod. Fert. 49, 383-385
- BROWN, C.R. u. R.A.P. HARRISON (1978) The activation of proacrosin spermatozoa from ram, bull and boar. Biochemica et Biophysica Acta 526, 202-217
- BROWN, C.R. u. E.F. HARTREE (1975) An acrosin inhibitor in ram spermatozoa that does not originate from the seminal plasma. Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 356, 1909-1913
- BROWN, C.R. u. E.F. HARTREE (1976) Effects of acrosin inhibitors on the soluble and membrane-bound forms of ram acrosin, and a reappraisal of the role of the enzyme in fertilization. Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 357, 57-65
- BUCHERER, O. (1962) Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. Medizinischer Verlag Hans Huber Bern und Stuttgart, 3. Auflage
- CABOT, C.L. u. G. OLIPHANT (1978) The possible role of immunological complement in induction of rabbit acrosome reaction. Biol. Reprod. 19, 666-672
- CLARA, M. (1966) Entwicklungsgeschichte des Menschen. Verlag Georg Thieme, Leipzig
- COHEN, J.P., A.P. HOFFER u. S. ROSEN (1976) Carbonic anhydrase localization in the epididymis and testis of the rat. Histochemical and biochemical analysis. Biol. Reprod. 14, 339-346

- CRABO, B. (1965) . Studies on the composition of epididymal content in bulls and boars.
Acta Vet. Scand. (Suppl. 6/5), 1-94
- DOTT, H.M. u. J.P.
DINGLE (1968) Distribution of lysosomal enzymes in the spermatozoa and cytoplasmic droplets of bull and ram.
Exp. Cell. Res., 52, 523-540
- FAWCETT, D.W.
(1970) A comparative view of sperm ultrastructure.
Biol. Reprod. (Suppl. 2), 90-127
- FINK, E., H. SCHIEBLER,
M. ARNOLD u. H. FRITZ
(1972) Isolierung eines trypsin-ähnlichen Enzyms (Akrosin) aus Eberspermien.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chemie 353, 1633-1637
- FRANKLIN, L.E., C.
BARROS u. E.N. FUSSELL
(1970) The acrosomal region and the acrosomal reaction in sperm of the golden hamster.
Biol. Reprod. 3, 180-200
- FRITZ, H., E. FINK
u. R. MARX (1971) Ansatzpunkte für eine anti-enzymatische Kontrazeption.
in: Sexualhormone und Blutgerinnung.
XIV. Hamburger Symposium über Blutgerinnung.
MARX, R. u. H.A. THIES (Ed.)
Verlag Schattauer F.K.,
Stuttgart, New York

- FRITZ, H., B. FÖRG- Humanakrosin: Gewinnung und
BREY, E. FINK, M. MEYER, Eigenschaften.
H. SCHIEBLER u. C, Hoppe-Seyler's Z. Physiol.
SCHIRREN (1972a) Chemie 353, 1943-1949
- FRITZ, H., B. FÖRG- Humanakrosin: Hemmbarkeit
BREY, M. MEYER, M. durch Protein-Proteinase-
ARNOLD u. H. TSCHESCHE Inhibitoren.
(1972b) Hoppe Seyler's Z. Physiol.
Chem. 353 , 1950-1952
- FRITZ, H., W.B. SCHILL Low molecular weight proteinase
H. TSCHESCHE, H. SCHIEB- (acrosin) inhibitors from
LER, N. HEIMBURGER u. human and boar seminal
O. WALLNER (1975) plasma and spermatozoa
and human cervical mucus-
isolation, properties and
biological aspects.
in: Proteases and Biological
control.
REICH, E., D.B. RIFKIN u.
E. SHAW (Eds) S. 737-766
Cold Spring Harbor Laboratory,
Cold Spring Harbor, New York
- GARNER, D.L., C.N. Electrophoretic characterization
GRAVES u. O.P.SHARMA of the trypsin-like activity
(1971) from ejaculated and uterin
incubated rabbit spermatozoa.
Biol. Reprod. 5, 84-85

- GLOVER, T.D. u. L.
NICANDER (1971) Some aspects of structure and function in the mammalian epididymis.
J. Reprod. Fert. (Suppl.) 13, 39-50
- GLOVER, T.J., F.
SUZUKI u. P.A.
RACEY (1974) The role of the epididymal cells in sperm survival.
in: The functional anatomy of the spermatozoon.
AFZELIUS, B.A. (Ed.) S. 359-371
Pergamon Press, Oxford, New York
- GOODPASTURE, J.C.,
P.M. ZARROS, M.R.
COHEN u. L.J.D.
ZANVELD (1981) Effects of various conditions of semen storage on the acrosin system of human spermatozoa.
J. Reprod. Fert. 63, 397-405
- GREEN, D.P.L. (1978a) The induction of the acrosome reaction in guinea-pig sperm by divalent metal cation ionophore A 23187.
J. Cell Sci. 32, 137-151
- GREEN, D.P.L. (1978b) The activation of proteolysis in the acrosome reaction of guinea-pig sperm.
J. Cell. Sci. 32, 153-164
- GWATKIN, R.B.L., D.T.
WILLIAMS, J.F. HART-
MANN u. M. KINAZUK
(1973) The zona reaction of hamster and mouse eggs: production in vitro by trypsin-like protease from cortical granules.
J. Reprod. Fert. 32, 259-265

HANSSON, V., O. TRYGSTAD, Androgen transport and receptor
F.S. FRENCH, W.S. McLEAN, mechanisms in testis and epi-
A.A. SMITH, D.J. TINDALL, didymis.

S.C. WEDDINGTON, P. Nature 250, 387-391

PETRUSZ, S.N. NAYFEH u.

E.M. RITZEN (1974)

HARRISON, R.A.P.,

u. C.R. BROWN (1979)

The zymogen form of acrosin
in testicular, epididymal and
ejaculated spermatozoa from
ram.

Gamete Research 2, 75-87

HARTMANN, J.F. u.

R.B.L. GWATKIN (1971)

Alteration of sites on the
mammalian sperm surface following
capacitation.

Nature 234, 479-481

HARTREE, E.V. u.

P.N. SRIVASTAVA
(1965)

The chemical composition of the
acrosomes of ram-spermatozoa.

J. Reprod. Fert. 9, 47-60

HARTREE, E.F. (1977)

The eleventh Ciba medal lecture:
spermatozoa, eggs and proteinases.
Biochem. Soc. Trans 5,
375-394

HIB, J. u. R.O.

PONZIO (1977)

Effect of efferent duct ligation,
gonadectomy and testosterone
replacement on epididymal
contractility in the rat.

J. Reprod. Fert. 50, 327-329

- | | |
|---|--|
| HO, J.J.L. u. S.
MEIZEL (1970) | Electrophoretic detection
of multiple forms of trypsin-
like activity in spermatozoa
of the domestic fowl.
J. Reprod. Fert. <u>23</u> , 177-179 |
| JOHNSON, M.P., R.M.
HARRISON u. W.R.
DUKELOW (1972) | Studies on the oviductal fluid
and in vitro fertilization in
rabbits and nonhuman primates.
Fedn.Proc. <u>31</u> , 369 |
| KELÂMI, A., D. ROHLOFF,
K. AFFELD, A. SCHRÖTER
u. B. BLOHM (1977) | Alloplastic spermatozele: inse-
mination from epididymal reser-
voir.
Urology <u>10</u> , 317-319 |
| KILLIAN, G.J. u. R.P.
AMANN (1973) | Immuno-electrophoretic charac-
terization of fluid and sperm
entering and leaving the bovine
epididymis.
Biol. Reprod. <u>9</u> , 489-499 |
| LEIDL, W., R. PRINZEN,
W.B. SCHILL u. H.
FRITZ (1975) | The effect of kallikrein on
motility and metabolism of
spermatozoa in vitro.
in: Kininogenases, 33-40
HABERLAND, G., J.W.
ROHEN, C. SCHIRREN u. P.
HUBER (Eds.)
Verlag Schattauer, Stuttgart,
New York |

- LEVINE, N. u. H. KELLY (1978) Measurement of pH in the rat epididymis in vivo.
J. Reprod. Fert. 52, 333-335
- MANN, Th. (1964) Biochemistry of semen and of the male reproductive tract.
Methuen, London
- MANN, Th. u. C. LUTWAK-MANN (1981) Male reproductive function and semen.
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York
- MARTAN, J. (1969) Epididymal histochemistry and physiology.
Biol. Reprod. (Suppl.) 1, 134-154
- MEIZEL, S. (1972) Biochemical detection and activation of an inactive form of a trypsin-lik enzyme in rabbit testes.
J. Reprod. Fert. 31, 459-462
- MEIZEL, S. u. S.K. MUKERIJJI (1975) Proacrosin from rabbit epididymal spermatozoa: partial purification and initial biochemical characterization.
Biol. Reprod. 13, 83-93
- MEIZEL, S. u. S.K. MUKERIJJI (1976) Biochemical studies of proacrosin and acrosin from hamster cauda epididymal spermatozoa.
Biol. Reprod. 14, 444-450
- MÜLLER, W. (1978) Neue Erkenntnisse über die Struktur und Funktion der Spermienprotease Akrosin.
Int. Fachtagung der Bundesanstalt f. künstl. Besamung der Haustiere
28. - 30.9.1978, WELS

- NICKEL, R., A.
SCHUMMER u. E.
SEIFERLE (1967) Lehrbuch der Anatomie der Haustiere.
Bd. II
Verlag Paul Parey, Berlin-Hamburg
- OLIPHANT, G., C.L.
CABOT u. C.A. SINGHAS
(1977) Nature of the rabbit acrosome
reaction - inducing activity
of follicular fluid.
J. Reprod. Fert. 50, 245-250
- ORGBIN - CHRIST,
M.C. (1969) Studies on the function of the
epididymis.
Biol. Reprod. (Suppl.) 1, 155-175
- PALM, S., W.B. SCHILL,
O. WALLNER, R. PRINZEN
u. H. FRITZ (1976) Occurrence of components of the
Kallikrein-Kinin system in human
genital tract secretions and their
possible function in stimulation
of sperm motility and migration.
Adv. Exp. Med. Biol. 70,
271-279
- PARRISH, R.F. u. K.L.
POLAKOSKI (1977) Effect of polyamines on the acti-
vity of acrosin and the activation
of proacrosin.
Biol. Reprod. 17, 417-422
- PARRISH, R.F. u. K.L.
POLAKOSKI (1978) An apparent high molecular weight
form of boar proacrosin resulting
from the presence of a protein
that binds to proacrosin.
Anal. Biochem. 87, 108-113
- PEDERSEN, H. (1972) The acrosome of the human sperma-
tozoon - a new method for its
extraction and an analysis of
its trypsin-like enzyme.
J. Reprod. Fert. 31, 99-107

- PETERSON, R., C.
RUSSELL, D. BUNDMANN
u. M. FREUND (1978) Presence of microfilaments and tubular structures in boar spermatozoa after chemically inducing the acrosome reaction.
Biol. Reprod. 19, 459-466
- POLAKOSKI, K.L., L.J.D.
ZANEVELD u. W.L.
WILLIAMS (1972a) Purification of a proteolytic enzyme from rabbit acrosomes.
Biol. Reprod. 6, 23-29
- POLAKOSKI, K.L.,
W.L. WILLIAMS u.
R.A. McRORIE (1972b) Purification and properties of acrosin, an arginyl proteinase from sperm acrosomes.
Fedn. Proc. 31, 366,
- POLAKOSKI, K.L.
u. R.A. McRORIE
(1973) Boar acrosin. II. Classification, inhibition and specificity studies of a proteinase from sperm acrosomes.
J. Biol. Chem. 248, 8183-8188
- POLAKOSKI, K.L. u.
R.F. PARRISH (1977) Purification and preliminary activation studies of proacrosin isolated from ejaculated boar sperm.
J. Biol. Chem. 252, 1888-1894
- POLAKOSKI, K.L.,
W.L. ZAHLER u.
J.D. PAULSON (1977) Demonstration of proacrosin and quantitation of acrosin ejaculated human spermatozoa.
Fert. Steril. 28, 668-670
- SCHIEBLER, M., H.
FRITZ, M. ARNHOLD,
E. FINK u. H.
TSCHESCHE (1972) Eigenschaften des trypsinähnlichen Enzyms (Akrosin) aus Eberspermien.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 353, 1638-1647

SCHILL, W.B. (1974)

Methodische Untersuchungen zur Akrosin-Aktivität in menschlichen Spermatozoen - Korrelation zwischen Akrosin und Spermatozoendichte. in: Fortschritte der Fertilitätsforschung, 80-88

SCHILL, W.B., H.
SCHIESSLER, V.
WENDT, N. HEIMBURGER
u. H. FRITZ (1976)

Localization of low molecular weight acrosin-trypsin inhibitors in the boar genital tract by immunofluorescence. Andrologia 8, 29 - 36

SCHLEUNING, W.D.,
H.J. KOLB, R. HELL u.
H. FRITZ (1975)

Boar acrosin. II. Amino acid composition, amino terminal residue and molecular weight estimation by ultracentrifugation. Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 356, 1923-1929

SCHUMACHER, G.F.B.,
J.R. SWARTMONT u.
F.P. ZUSPAN (1971)

Fertility experiments in mice and rabbits with the trypsin-kallicrein-inhibitor from bovine lung. in: Proc. Int. Res. Conf. on Protease inhibitors, Munich Germany, S. 247-252
FRITZ, H. u. H. TSCHESCHE (Eds)
Verlag W. De Gruyter, Berlin-New York

- SCHWERT, G.W. u.
Y. TAKENAKA (1955) A spectrophotometric determination
of trypsin and chymotrypsin.
Biochim. Biophys. Acta 16,
570-575
- SRIVASTAVA, P.N.,
C.E. ADAMS u. E.F.
HARTREE (1965) Enzymic removal of acrosomal
preparation on the rabbit ovum
in vitro.
J. Reprod. Fert. 10, 61-67
- STAMBAUGH, R. u.
J. BUCKLEY (1968) Zona pellucida dissolution.
Enzymes of the rabbit sperm
head.
Science 161, 585-586
- STAMBAUGH, R. u.
J. BUCKLEY (1969) Identification and subcellular
localization of the enzymes
effecting penetration of the
zona pellucida by rabbit sperma-
tozoa.
J. Reprod. Fert. 19, 423-432
- STAMBAUGH, R. u.
J. BUCKLEY (1972) Histochemical subcellular loca-
lization of the acrosomal proteina-
se effecting dissolution of the
zona pellucida using fluorescein
labeled inhibitors.
Fert. Steril. 23, 348-353
- STARK, D. (1975) Embryologie.
3. Auflage
Verlag Georg Thieme, Stuttgart
- SUOMINEN, J. u.
B.P. SETCHELL (1972) Enzymes and trypsin inhibitor
in the rete testis fluid of rams
and boars.
J. Reprod. Fert. 30, 235-245

- SUOMINEN, J., M.H.
KAUFMAN u. B.P.
SETCHELL (1973) Prevention of fertilization in vitro
by an acrosin inhibitor from rete
testis fluid of the ram.
J. Reprod. Fert. 34, 385-388
- TEICHMANN, R.J. u.
M.H. BERNSTEIN
(1969) A morphological and biochemical
comparison of rabbit, human and
bull acrosomes.
J. Cell. Biol. 43, 144
- TEICHMANN, R.J. u.
M.H. BERNSTEIN
(1971) Fine structure localization
of acid phosphatase in rabbit
and bull sperm heads.
J. Reprod. Fert. 27, 243-248
- TOBIAS, P.S. u. G.F.B.
SCHUMACHER (1977) Observation of two proacrosins
in extracts of human spermatozoa.
Biochem. Biophys. Res. Comm.
74, 434-439
- WAITES, G.M.H. u.
B.P. SETCHELL (1969) Physiology of the testis, epididymis
and scrotum.
Adv.Reprod. Physiol. 4, 1-63
- WALDSCHMIDT, M., B.
HOFFMANN u. H.
KARG (1966) Untersuchungen über die tryptische
Enzymaktivität in Geschlechtssekre-
ten von Bullen.
Zeitschrift für Zuchthygiene 1,
15-21
- WEBER, F. (1975) Biochemische Untersuchungen über
Proteinaseinhibitoren aus Sperma
und Genitalorganen vom Eber.
Vet. Med. Diss., München

- WENDT, V. (1974) Akrosinbestimmung bei Bullenspermien unter besonderer Berücksichtigung des einzelnen Spermiums.
Vet. Med. Diss., München
- WOLF, H.H. u. W.B. SCHILL (1975) Ultrastructural study of human sperm acrosom during acetic acid extraction of acrosin.
J. Reprod. Fert. 42, 385-387
- YAMANE, Y. (1935a) Kausal-analytische Studien über die Befruchtung des Kaninchen-eies. 1. Die Dispersion der Follikelzellen und die Ablösung der Zellen der Corona radiata des Eies durch Spermatozoen.
Cytologica 6, 233-255
- YAMANE, Y. (1935b) Kausal-analytische Studien über die Befruchtung des Kaninchen-eies. 2. Die Isolierung der auf das Eizytoplasma auflösend wirkenden Substanzen aus den Spermatozoen.
Cytologica. 6, 474-485
- YANAGIMACHI, R. (1975) Acceleration of the acrosome reaction and activation of guinea-pig spermatozoa by detergents and other reagens.
Biol. Reprod. 13, 519-526
- YANAGIMACHI, R. (1978) Calcium requirement for sperm-egg fusion in mammals.
Biol. Reprod. 19, 949-958

- ZANEVELD, L.J.D.,
P.N. SRIVASTAVA u.
W.L. WILLIAMS (1969)
Relationship of a trypsin-like enzyme in rabbit spermatozoa to capacitation.
J. Reprod. Fert. 20, 337-339
- ZANEVELD, L.J.D. u.
W.L. WILLIAMS (1970)
A sperm enzyme that disperses the corona radiata and its inhibition by decapacitation factor.
Biol. Reprod. 2, 363-368
- ZANEVELD, L.J.D.,K.L.
POLAKOSKI, C.W. FOLEY
u. W.L. WILLIAMS
(1971a)
The role of acrosin, an acrosomal protease and acrosin inhibitor in capacitation of sperm.
Fedn. Proc. 30, 2241,
- ZANEVELD, L.J.D.,
R.T. ROBERTSON, M.
KESSLER u. W.L.
WILLIAMS (1971b)
Inhibition of fertilization in vivo by pancreatic and seminal plasma trypsin inhibitors.
J. Reprod. Fert. 25, 387-391
- ZANEVELD, L.J.D.,
K.L. POLAKOSKI u.
W.L. WILLIAMS
(1972a)
Properties of acrosin, a proteolytic enzyme from rabbit sperm acrosomes.
Biol. Reprod. 6, 30-39
- ZANEVELD, L.J.D.,
B.M. DRAGOJE u.
G.F.B. SCHUMACHER
(1972b)
Acrosomal proteinase and proteinase inhibitor of human spermatozoa.
Science 177, 702-703
- ZANEVELD, L.J.D.,
K.L. POLAKOSKI u.
G.F.B. SCHUMACHER
(1973a)
Properties of acrosomal hyaluronidase from bull spermatozoa: evidence for its similarity to testicular hyaluronidase.
J. Biol. Chem. 248, 564-570

ZANEVELD, L.J.D.,
G. SCHUMACHER, H.
FRITZ, E. FINK u.
E. JAUMANN (1973b)

Interaction of human sperm acrosomal
proteinase with human seminal plasma
proteinase inhibitors.
J. Reprod. Fert. 32, 525-529

ZIMMERMANN, R. u. P.J.
BURCK (1978)

The loss of a low molecular weight
acrosin inhibitor from acrosomes
during capacitation.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 158,
491-495

Danksagung

Herrn Prof. Dr. D. Rohloff danke ich sehr für die Überlassung des Themas und die mir jederzeit gewährte Unterstützung bei der Durchführung und Abfassung der Arbeit.

Herrn Dr. Chr. Laiblin bin ich für die Beratungen bei der Einarbeitung in die Labormethoden sehr verbunden.

Letztlich gilt mein Dank den Med.-techn. Assistentinnen im andrologischen Labor der Klinik für Kleintierkrankheiten, Frau H. Kärst und Frau B. Stolze für die Hilfen beim experimentellen Teil der Arbeit.

Lebenslauf

Name:	Hitzbleck
Vorname:	Thomas
Geburtsdatum/-ort:	12.3.1947, Wilhelmshaven
Vater:	Hans-Emil Hitzbleck, Dipl.-Ing.
Mutter:	Ursula Hitzbleck, geb. Eberhardt, Hausfrau
Beruflicher Werdegang:	1953-1957 Volksschule in Wittlaer 1957-1958 Mercator-Gymn., Duisburg 1968-1967 Gymn. f. Jungen, Emden 1967-1970 Banklehre bei der Stadt- sparkasse in Emden 1971 Bundeswehr 1972-1974 Zahnmedizin-Studium in Münster (Westfalen) 1975-1981 Studium an der Freien Universität Berlin. Tierärztliche Prüfung im Frühjahr 1981, Bestal- lung als Tierarzt im Juli 1981

